

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT EN DÉCEMBRE 1970

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Pharmacie)

par

Patrice CONCHE

Pharmacien

Né le 18 Mars 1946
à CHAMALIÈRES (63)

Contribution à l'étude critique et expérimentale
de la Composition Biochimique du Sang des Reptiles
et en particulier de Vipera aspis.

Président : Monsieur DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury { Monsieur BERGER, Professeur
 Monsieur GENTOU, Maître de Conférences Agrégé

- E R R A T A -

P.10 : avant dernière ligne : " que " au lieu de " queur "

P.16 : ligne 11 : " Crocodylus " au lieu de " Crocodylys "

Tableau N° 1 , ligne 7 : " Crocodylus " au lieu de "Crocidylys "

Page 43 : ligne 28 : " myotrophique " au lieu de " myotropique "

P. 68 : ligne 13 : " HERNANDEZ et " au lieu de " er "

P. 78 : ligne 21 : " grande " au lieu de " grand "

Référence N° 28 : " Crocodilia " au lieu de " Crocodila "

Référence N° 56 : " Phosphorus " au lieu de " Phorphorus "

Référence N° 142 : " convenient " au lieu de "inconvenient "

Référence N° 166 : " found " au lieu de " founds "

Contribution à l'étude critique et expérimentale
de la Composition Biochimique du Sang des Reptiles
et en particulier de Vipera aspis.

Président : Monsieur DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury { Monsieur BERGER, Professeur
 { Monsieur GENTOU, Maître de Conférences Agrégé



UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL

Assesseur : M. COULET

Doyen honoraire : M. CUVELIER

Directeur honoraire : M. MERLE

Professeurs honoraires : Mme BLANQUET - M. BUREAU
M. POMME - M. WILLEMIN-CLOG
M. GERMAIN - M. VAURS

I - PROFESSEURS TITULAIRES

MM. BARRIER	Clinique Chirurgicale
BASTIDE	Chimie Biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	Clinique Obstétricale
BERGER	Chimie Analytique
BERGERON	Pathologie Médicale
CLUZEL	Bactériologie
COULET	Botanique et Microbiologie
CUVELIER	Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	Biochimie Médicale
DAUPHIN	Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	Anatomie Pathologique
DUCHÊNE-MARULLAZ	Pharmacologie
FEBVRE	Pharmacie Galénique
Mme GAILLARD	Physique Pharmaceutique
MM. GERMAIN	Clinique Chirurgicale B
GRAS	Clinique Médicale A
JACQUEMET	Technique Chirurgicale
JALLUT	Séméiologie Médicale
JANNY	Neuro-Chirurgie
LATAIX	Clinique Chirurgicale
MERCIER	Anatomie
MEYNIEL	Biophysique Médicale
MOLINA	Clinique Pneumo-Phtisiologique
PETIT	Médecine Légale et Médecine Sociale



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548424_0009

MM. POROT	Clinique Neurologique et Psychiatrique
POURRAT	Matière Médicale
M ^{le} RAMPON	Thérapeutique
MM. ROUHER	Clinique Ophtalmologique
TERRASSE	Clinique Médicale B
THIEBLOT	Physiologie
THOMAS	Clinique Oto-Rhino-Laryngologie
TRONCHE	Pharmacie Chimique
TURCHINI	Histologie et Embryologie

II - PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

MM. ALFIERI	Biophysique Médicale
CHAMPEIX	Médecine Légale et Médecine du Travail
VIALLET	Electro-Radiologie

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE

M ^{le} CHATONIER	Chimie Minérale et Minéralogie
MM. MENUT	Pédiatrie et Puériculture
PIGNIDE	Médecine Générale
Mme POURRAT	Matière Médicale

IV - MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM. ANDRAUD	Toxicologie
BAGUET	Thérapeutique, Réanimation Médicale
BOUCHER	Physiologie
BOURDEIX	Chirurgie Générale
CONSTANTIN	Anesthésiologie
COUQUELET	Pharmacie Chimique
GAILLARD DE COLLOGNY	Oto-Rhino-Laryngologie
GENTOU	Biochimie Médicale
MALET	Histologie, Embryologie, Cytogénétique
MARCHEIX	Médecine Interne
Mme MOINADE	Médecine Générale et Thérapeutique
MM. NEVEU	Urologie
PERI	Stomatologie
Mme PETIT	Chimie Analytique
MM. PLAGNE	Cancérologie Clinique
RAYNAUD	Pédiatrie
SOLE	Ophtalmologie
VENRIES DE LAGUILLAUMIE	Anatomie Pathologique

V - AGREGES

MM. FOURRIER	Orthopédie
RENARD	Pneumo-Phtisiologie
TOURNILHAC	Neurologie et Psychiatrie

VI - DELEGUES DANS LES FONCTIONS DE
MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM. AIACHE	Pharmacie Galénique
BOYER	Chimie Biologique
GUILLOT	Botanique
VANNEUVILLE	Anatomie

Attaché principal : M. BERTHON

Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de Thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propre à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation (Délibération du 6 juin 1956).

A mes parents et à mes grands-parents

A ma femme

A tous les miens

A mes amis.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale

Docteur en Médecine et en Pharmacie

Docteur ès-Sciences

Biologiste des Hôpitaux

✓ Lauréat de l'Académie de Médecine et de l'Académie des Sciences

Chevalier de la Légion d'Honneur

Commandeur de la Santé Publique

Commandeur des Palmes Académiques

Officier de l'Ordre National du Mérite

Qui a inspiré le sujet de cette thèse et en a guidé la réalisation par ses avis très compétents.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur BERGER
Professeur de Chimie Analytique
Chevalier des Palmes Académiques

Il nous a fait l'honneur de juger cette thèse. Qu'il reçoive
le témoignage de notre profond respect.

Monsieur GENTOU
Maître de Conférences Agrégé de Biochimie Médicale
Biologiste des Hôpitaux

Il nous a prodigué ses conseils éclairés. Qu'il soit assuré
de notre sincère et vive reconnaissance.

INTRODUCTION GENERALE

La vipère jouit d'une haute et lointaine réputation d'ordre thérapeutique qui lui a valu pendant longtemps une place de choix dans la Pharmacopée. A l'appui de cette affirmation, nous ne citerons que la Thériaque dans la composition de laquelle elle jouait un rôle important. Pendant plusieurs siècles, et tout récemment encore, les chercheurs concentrèrent leur attention et leurs études sur le venin et ses propriétés. Mais, depuis quelques années, des recherches nombreuses sur l'équipement enzymatique des organes de la vipère - Madame MORGAND-LAUMIN, 1969 (114) - puis sur la composition biochimique du sang, ont été entreprises sous l'inspiration du Professeur DASTUGUE. C'est ce dernier point qui fait l'objet de notre travail.

- Une première partie bibliographique rappellera les travaux relatifs à l'ensemble des Reptiles, et nous en concluerons qu'il était opportun de s'intéresser au cas particulier de Vipera aspis.

- Une deuxième partie d'ordre expérimental permettra d'envisager successivement les divers aspects de la composition biochimique du sang de Vipera aspis :

- . Hématocrite et vitesse de sédimentation,
- . Hémolyse - Constituants minéraux globulaires,
- . Hémoglobine,
- . Protéines,
- . Glucoprotéines,
- . Lipoprotéines et Lipides,
- . Constituants azotés non protéiques,
- . pH et réserve alcaline,
- . Glycémie,
- . Constituants minéraux plasmatiques.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer nos vifs remerciements à notre Maître, Monsieur le Professeur DASTUGUE qui, après nous avoir confié pendant un an les fonctions d'assistant dans son Service, a bien voulu nous inspirer ce sujet de thèse et nous aider de ses précieux conseils.

Nous assurons également de notre sincère reconnaissance tous les chercheurs du Laboratoire de Biochimie Médicale, en particulier Madame GACHON, Mademoiselle BOEUF et Monsieur MOTTA qui ont pris une part effective à certaines de nos recherches.

Remercions enfin le Service de l'Institut Pasteur et Monsieur le Professeur LAMY qui nous ont fourni les vipères indispensables à la réalisation de ce travail.

oOo

P R E M I E R E P A R T I E

- RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES -

CHAPITRE I

INTRODUCTION A L'ETUDE DE DIFFERENTS TRAVAUX

Avant d'examiner en détail différentes publications, au fur et à mesure que nous étudierons chaque constituant ou groupe de constituants sanguins des Reptiles, il nous a semblé préférable de réunir en un chapitre préalable quelques considérations générales rapportées par les auteurs.

COULSON, HERNANDEZ et BRAZDA (1950) (29), ont consacré leurs recherches à certaines études biochimiques chez l'alligator nord-américain, Alligator mississippiensis. Leurs résultats concernent des animaux en état de jeûne, pris dans des conditions expérimentales de laboratoire, et pour lesquels les variations de saison, de nourriture et de température, bien que réelles, n'étaient pas prises en considération. Leurs conclusions révèlent certaines contradictions marquées avec celles rapportées par HOPPING (1923) (78), DILL et EDWARDS (1935) (46) et AUSTIN et Coll. (1927) (5), qui avaient effectué auparavant un travail sensiblement parallèle. L'étude de COULSON et Coll. rapporte des données obtenues de 65 alligators, sans distinction de sexe, dont l'âge variait de 1 à 4 ans, le poids de 50 g à plus de 7 kg, et maintenus à une température moyenne de 26° C. Ces animaux, gros mangeurs au printemps et en été, petits mangeurs en hiver, étaient nourris de rats récemment écorchés. Le sang, sauf pour les dosages de glucose (le prélèvement se faisait alors à l'extrémité de la queue) était obtenu par ponction cardiaque selon la méthode de HOPPING (78) et recueilli sur oxalate de potassium ou d'ammonium qui servait d'anticoagulant. Ces auteurs insistent sur le fait que leurs études ont été menées sur des animaux en état de jeûne, et trouveraient là une explication aux contradictions mentionnées précédemment.

HERNANDEZ et COULSON (1951) (74), ont poursuivi leurs recherches biochimiques en s'intéressant à l'iguane, reptile commun d'Amérique tropicale, et pourtant méconnu. Ils ont travaillé sur 7 spécimens de Ctenosaura acanthura ou "iguane noir", et 9 spécimens d'Iguana iguana rhinolopha ou "iguane commun". La nourriture de ces animaux était à base de choux. Leur sang était prélevé par ponction cardiaque, et les analyses pratiquées pendant les mois d'août et septembre, sur le sang et le plasma des deux espèces. Dans l'ensemble des résultats, peu de différences sont apparues entre celles-ci.

STEENROOS et BOWMAN (1968) (143), ayant considéré que les données existant sur le sang des tortues étaient relativement éparses, ont entrepris de déterminer les taux de divers constituants du sang de tortue. Ils ont employé à cet effet des tortues normales, à jeun, appartenant aux 4 espèces communes suivantes :

- Chrysemys picta belli
- Pseudemys scripta elegans
- Emydoidea blandingi
- Clemmys insculpta

Le sang de ces animaux était recueilli par ponction cardiaque, laissé à température ambiante pendant la coagulation, puis centrifugé ; le sérum était alors prélevé, sur lequel devaient se faire les différents dosages.

Pour chaque aspect prochain de la composition biochimique du sang des divers Reptiles, nous rapporterons, après l'alligator, l'iguane et la tortue, les valeurs concernant le serpent. Dès 1929, LUCK et KEELER (103), publiaient une étude de la chimie du sang de 2 espèces communes de serpents à sonnettes :

- Crotalux atrox, serpent des déserts de l'Arizona, du Texas et du Nouveau-Mexique,
- Crotalus oregonus, serpent des Etats du Pacifique.

Ils ont utilisé 5 grands spécimens de la première espèce qui, ne s'alimentant pas en captivité, étaient nourris par force une fois toutes les 2 ou 3 semaines d'un rat d'environ 200 g. La ponction cardiaque permettait de recueillir à chaque prélèvement 5 à 10 cc. de sang chez l'animal à jeun.

Les serpents du Pacifique, plus petits, n'étaient pas nourris, et saignés en une seule fois, également par ponction cardiaque. Les méthodes d'analyse utilisées par ces auteurs étaient préalablement testées en les appliquant aux déterminations chez l'homme, et ils ont présenté leurs résultats en les comparant aux valeurs admises pour celui-ci.

A deux reprises (1941 et 1942), Madame JOY et DASTUGUE (87) (88) avaient, dans leurs recherches sur les éléments figurés du sang de Vipera aspis, trouvé que la richesse du sang de vipère diminuait au cours de l'hibernation, diminution persistant jusqu'en mai et à laquelle faisait suite une augmentation persistant jusqu'en octobre. Travaillant ensuite sur les constituants chimiques, Madame JOY et DASTUGUE (1943) (89) ne purent déceler de façon nette un phénomène analogue, et nous rapporterons leurs résultats, obtenus sur du sang de Vipera aspis recueilli par ponction cardiaque.

HUTTON (1958) (81) a étudié la chimie du sang de 4 espèces de serpents :

Deux espèces terrestres : - Coluber constrictor flaviventris
- Lampropeltis getulus getulus

Et 2 espèces aquatiques : - Agkistrodon piscivorus, mocassin d'eau
- Natrix sipedon pictiventris, serpent d'eau de Floride

Son but a été non seulement d'obtenir de nouvelles données, mais encore d'établir l'influence de l'habitat et des coutumes sur la composition sanguine de ces serpents. Ces animaux, jusqu'à 10 jours avant la saignée, étaient nourris de lézards ou de grenouilles. Leur sang était recueilli par ponction cardiaque sur oxalate de potassium servant d'anticoagulant, sauf dans le cas du mocassin, animal trop petit, dont le sang était obtenu par décapitation. HUTTON, à l'observation de ses résultats, a conclu à des différences d'espèce ne pouvant être interprétées comme des différences écologiques ; les 4 espèces de serpents envisagées apparaissaient même comme terrestres à la base, les adaptations physiologiques de Natrix et Agkistrodon étant avant tout celles des animaux terrestres. Cet auteur, comparant le fruit de son travail à des valeurs précédemment rapportées, établissait enfin qu'une relation beaucoup plus étroite existait entre serpents et lézards, qu'entre serpents et tortues ou alligators.

Nous noterons enfin les résultats de l'investigation entreprise par DIETZ et BRODIE (1969) (45), de la composition ionique du sang du serpent Pituophis melanoleucus catenifer, à différents stades de son développement : embryon, nouveau-né, adulte. Le sang recueilli par ponction cardiaque, coagulait lentement lorsqu'il s'agissait d'un échantillon adulte, plus rapidement lorsqu'il s'agissait d'un nouveau-né. Les analyses effectuées ont fourni des résultats laissant apparaître des changements significatifs dans la composition sanguine du serpent Pituophis au cours de son développement.

oOo

CHAPITRE II

HEMATOCRITE - VOLUME PLASMATIQUE & VOLUME GLOBULAIRE VITESSE DE SEDIMENTATION

L'hématocrite, ou pourcentage volumétrique des globules rouges par rapport au sang total, mesuré chez Alligator mississippiensis par COULSON, HERNANDEZ et BRAZDA (29), a donné une valeur moyenne de 21,8. Chez cet animal, le volume globulaire moyen de $472 \mu^3$ ne correspondait pas à la valeur de $160 \mu^3$ donnée précédemment par HOPPING (78). Le volume du sang total, déterminé par l'emploi du colorant bleu Evans sur un alligator de 2 kg, représentait 4,2 % du poids du corps. Une seule estimation était possible puisque le sang restait coloré pendant plusieurs semaines, ce qui rendait impossible la mesure colorimétrique de ses constituants.

HERNANDEZ et COULSON (74) ont observé chez l'Iguane des hématies ovales nucléées et de grandes dimensions, et ont trouvé pour l'hématocrite et le volume globulaire moyen respectivement, chez l'iguane noir 35 % et $338 \mu^3$, chez l'iguane commun 30 % et $298 \mu^3$. Les éléments de l'Alligator, par comparaison, apparaissent donc encore plus grands.

HUTTON (1961) (83) travaillant sur un groupe de 11 tortues Pseudemys scripta elegans, 6 mâles et 5 femelles, de poids différents, a établi que l'importance du corps n'influait pas l'hématocrite. Le volume du sang total, déterminé par injection cardiaque d'albumine iodée (I 131) variait de 42,1 ml à 64,1 ml chez les tortues mâles et de 58 ml à 121,2 ml chez les femelles ; le volume plasmatique variait de 34,5 ml à 53,2 ml chez les mâles et de 47,5 ml à 103,4 ml chez les femelles. HUTTON, exprimant ces valeurs en pourcentage du poids du corps, a montré une très nette corrélation inverse entre le volume du sang total et ce poids.

Ce même auteur, quelques années auparavant (1958) (81) avait mesuré l'hématocrite, par la méthode de VAN ALLEN (154), des serpents terrestres Coluber et Lampropeltis, et des serpents d'eau Agkistrodon et Natrix. Ces valeurs sont inscrites dans le tableau N°1. HUTTON notait que ses résultats étaient en accord avec ceux de RAPOPORT et GUEST (129) pour le mocassin et le serpent-roi, ainsi que pour le serpent d'eau Natrix taxispilota.

DIETZ et BRODIE (45) mesuraient, dans des tubes capillaires héparinés, l'hématocrite de leurs serpents Pituophis melanoleucus catenifer, embryons, nouveaux-nés et adultes, dans le but de déterminer par la suite les concentrations en ions des cellules sanguines, par différence entre les concentrations dans le sang total et dans le sérum. Ces valeurs de l'hématocrite sont également présentées dans le tableau N°1, et les auteurs ont noté que les variations de l'hématocrite entre l'adulte et le nouveau-né étaient significatives ; d'autre part, que l'hématocrite d'embryon pré-éclos était significativement plus élevé que celui des nouveaux-nés ; ceci serait dû à un plus grand nombre de cellules sanguines compensant une respiration aquatique, dans les conditions embryonnaires, moins efficace pour le transfert de l'oxygène. Par la suite, la chute de l'hématocrite chez le nouveau-né serait plutôt interprétée comme une dilution du sang que comme une destruction des cellules. La valeur de l'hématocrite observée chez le serpent Pituophis adulte est semblable à celle trouvée chez d'autres serpents.

Madame MORGAND-LAUMIN (114) a récemment effectué sur le sang de Vipera aspis, recueilli sans anticoagulant, des microhématocrites. Elle a obtenu une valeur moyenne, pour 82 échantillons de sang sans distinction de sexe, de 31,71 %. Nous reprendrons ultérieurement ces mesures, séparément pour chaque sexe, dans notre étude expérimentale sur la Vipère, et nous pourrions ainsi comparer nos résultats aux valeurs connues pour l'Homme et la Femme, soit 45 et 41 % respectivement.

Un travail qui nous a paru reprendre parfaitement dans son ensemble ce chapitre consacré à l'hématocrite et aux volumes sanguins des Reptiles, est celui de THORSON (1968) (151). Celui-ci a réuni les données précédemment publiées, et a poursuivi par des investigations personnelles. Ces dernières portent sur des animaux appartenant à 4 ordres et 8 familles de Reptiles qui sont :

Tableau N°1 - Valeurs précédemment données de l'hématocrite des Reptiles

ESPECE	Nombre de spécimens	Valeur de l'hématocrite	Valeurs extrêmes	AUTEURS
Alligator mississippiensis	29	21.8	16 - 29	COULSON & Coll. 1950 (29)
- id -	11	24	-	DILL & EDWARDS 1935 ^{xx} (46)
- id -	10	14,5	-	HOPPING 1923 ^{xx} (78)
- id -	22	22.6	-	HUGGINS 1961 ^{xx} (80)
- id -	?	30	-	WINTROBE 1934 ^{xx} (162)
- id -	8	24.7	18 - 28	THORSON 1968 (151)
Crocidylus moreleti	2	26,5	22 - 31	- id -
Crocodylus acutus	2	26	24 - 28	- id -
Caiman fuscus	7	26.1	18 - 32	- id -
Ctenosaura acanthura	7	35	29 - 46	HERNANDEZ & COULSON 1951 (74)
Iguana ignana rhinolopha	9	30	25 - 36	- id -
- id -	7	29.7	26 - 35	THORSON 1968 (151)
Chelydra serpentina	8	27.1	22 - 31	- id -
- id -	?	21	-	GAUMER & GOODNIGHT 1957 ^{xx} (61)
Chrysemys picta marginata	?	35	-	- id -
Pseudemys scripta troostii	?	27.5	-	- id -
Pseudemys scripta elegans	120	19	-	HUTTON 1960 ^{xx} (82)
Id + Chrysemys picta	14	22.4	-	WILSON & Coll 1960 ^{xx} (161)
Terrapene carolina carolina	54	24.7	-	ALTLAND & THOMPSON 1958 ^{xx} (1)
- id -	?	24.9	-	GAUMER & GOODNIGHT 1957 ^{xx} (61)
- id -	?	22.1	-	WINTROBE 1934 ^{xx} (162)
Gopherus polyphemus	7	29.6	25 - 34	THORSON 1968 (151)

Tableau N° 1 - Valeurs précédemment données de l'hématocrite des Reptiles (suite)

ESPECE	Nombre de spécimens	Valeur de l'hématocrite	Valeurs extrêmes	AUTEURS
Chelonia mydas mydas	8	31.6	26 - 38	THORSON 1968 (151)
Chelonia m. agassizii	2	31	30 - 32	- id -
Lepidochelys kempí	2	31.5	29 - 34	- id -
Lepidochelys olivacea	2	32	31 - 33	- id -
Chelonia caretta	2	32	30 - 34	- id -
Malaclemys terrapin centrata	5	30.8	27 - 36	- id -
Lampropeltis getulus getulus	5	22	14 - 31.6	HUTTON 1958 (81)
Coluber constrictor flaviventris	5	26.4	22 - 31	- id -
Natrix sipedon pictiventris	5	21.9	16 - 28	- id -
Agkistrodon piscivorus	6	17.5	14 - 20.5	- id -
Pituophis melanoleucus catenifer adulte	-	-	-	DIETZ & BRODIE 1969 ⁸ (45)
Id Nouveau-né à 20 - 25°C	3	33	-	- id -
Id Nouveau-né à 14°C	6	26.6	-	- id -
Id Embryon pré-éclos à 14°C	10	25.6	-	- id -
Vipera aspis	2	-	42 - 48.5	- id -
Thamnophis sirtalis	82	31.7	-	Mme MORGAND-LAUMIN 1969 (114)
Heterodon contortrix	-	28	-	WINTROBE 1934 ⁸ (162)
Natrix sipedon	-	18.7	-	- id -
Constrictor constrictor imperator	-	35.5	-	- id -
Pituophis catenifer annectans	6	29.3	22 - 37	THORSON 1968 (151)
	6	29.5	27 - 33	- id -

Tableau N°2 - Valeurs précédemment publiées des volumes sanguin et plasmatique des Reptiles

ESPECE	Nombre de spécimens	Volume sanguin (% poids du corps)	Volume plasmatique (% poids du corps)	AUTEURS
<i>Alligator mississippiensis</i>	1	4.2		COULSON & Coll. 1950 (29)
- id -	22	7.27 ml/100 g	-	HUGGINS 1961 ⁸ (80)
- id -	8	5.1	3.7	THORSON 1968 (151)
<i>Crocodylus moreletii</i>	2	4.8	3.4	- id -
<i>Crocodylus acutus</i>	2	4.9	3.6	- id -
<i>Caiman fuscus</i>	7	5	3.5	- id -
<i>Iguana iguana</i>	7	6	4.2	- id -
<i>Chelydra serpentina</i>	8	4.7	3.3	- id -
- id -	-	3.3	-	WILBER 1962 ⁸ (160)
<i>Pseudemys scripta elegans</i>	11	8.75 ml/100 g	-	HUTTON 1961 (83)
- id -	7	8.1 ml/100 g	-	WILSON et Coll. 1960 ⁸ (161)
<i>Chrysemys picta</i>	12	8.4 ml/100 g	-	- id -
- id -	6	7.5	-	DERRICKSON & AMBERSON 1934 ⁸ (34)
<i>Gopherus polyphemus</i>	7	6	4.1	THORSON 1968 (151)
<i>Chelonia m.mydas</i>	8	6.5	4.4	- id -
<i>Chelonia mydas agassizii</i>	2	6.6	4.5	- id -
<i>Lepidochelys kempii</i>	2	6.7.	4.4.	- id -
<i>Lepidochelys olivacea</i>	2	6.6	4.4	- id -
<i>Chelonia c. caretta</i>	2	6.7	4.5	- id -

Tableau N°2 - Valeurs précédemment publiées des volumes sanguin et plasmatique des Reptiles (Suite)

ESPECE	Nombre de spécimens	Volume sanguin (% poids du corps)	Volume plasmatique (% poids du corps)	AUTEURS
Malaclemys terrapin centrata	5	6.5	4.4	THORSON 1968 (151)
Natrix natrix	1	4.55	-	WELCKER 1858 ⁸ (159)
Anguis fragilis	3	5.27	-	- id -
Lacerta muralis	4	6.49	-	- id -
Lacerta agilis	11	5.80	-	- id -
- id -	5	3.02	-	FRY 1914 ⁸ (60)
Constrictor c. imperator	6	5.9	4	THORSON 1968 (151)
Pituophis catenifer annectans	6	6	4.1	- id -
Uromastix hardwickii	1	4.37 ml/100 g	-	MENON 1952 ⁸ (108)

volume du sang. La valeur moyenne pour tous les Reptiles envisagés était d'environ 29 %. Les valeurs trouvées pour toutes les espèces d'eau douce, dont les Crocodiliens et la tortue Chelydra serpentina, étaient inférieures à cette moyenne, allant de 24,7 à 27,1 %. Par contre, les 5 tortues marines avaient des hématokrites à 31 ou 32 % et les autres espèces, terrestres, à plus de 29 %.

Le volume plasmatique était obtenu par la méthode de dilution de colorant, ce colorant n'atteignant pas l'eau intracellulaire. Pour une étude des compartiments liquides, la mesure du volume plasmatique est appropriée ; celle du volume sanguin total étant plus importante du point de vue de la dynamique circulatoire. Les valeurs du volume plasmatique chez les 5 formes d'eau douce varient de 3,3 à 3,7 % du poids du corps ; elles sont de 4,4 ou 4,5 % chez les tortues marines, et de 4, 4,1 ou 4,2 % pour les Reptiles terrestres. Cet échantillonnage des valeurs se retrouve dans les volumes du sang total : 4,7 à 5,1 % chez les espèces d'eau douce ; 6,5 à 6,7 % chez les formes marines, et 5,9 à 6 % chez les terrestres. THORSON note que ses propres résultats sont comparables à d'autres précédemment rapportés, en particulier aux premiers connus, ceux de WELCKER (1858) (159) ; il observe enfin, par extrapolation, la proportionnalité inverse entre volume du sang et poids du corps, déjà rapportée par HUTTON (1961) (83).

Parmi les résultats que nous consignons dans les tableaux N°1 et 2, nous avons noté d'un astérisque ceux rapportés par THORSON représentant des publications antérieures à la sienne, que nous avons seulement retranscrits.

La vitesse de sédimentation globulaire est la vitesse à laquelle se déposent les hématies d'un sang rendu incoagulable. Elle a été mesurée chez l'alligator par COULSON, HERNANDEZ et BRAZDA (29). La moyenne trouvée pour 33 déterminations était de 5 mm/heure, les valeurs étant échelonnées de 2 à 7 mm/heure.

Madame MORGAND-LAUMIN (114) a étudié ce phénomène de sédimentation chez la vipère ; elle a apprécié la vitesse de sédimentation par la méthode de Westergreen, qui consiste en la lecture de la colonne de plasma surnageant dans un tube calibré et gradué, après un temps déterminé. Ses résultats (exprimés en mm/h), rapportés dans le tableau suivant N°3, concernent des expériences ayant duré 1, 2 et 24 heures, faites sur sang citraté, mais aussi sur sang pur, puisque le sang de Vipera aspis n'a pas tendance à coaguler.

	VIPERA ASPIS		HOMME	FEMME
	Sang citraté	Sang pur		
1 heure	5,6 ± 0,9	4,8 ± 0,7	2 à 6	4 à 9
2 heures	12,2 ± 1,3	10,7 ± 1,1	5 à 10	6 à 12
24 heures	128 ± 2,4	101 ± 3,1	< 50	< 70

Tableau N°3 : Vitesse de sédimentation

oOo

CHAPITRE III

GLOBULES ROUGES : NUMERATION - HEMOLYSE

COMPOSITION IONIQUE - HEMOGLOBINE

COULSON, HERNANDEZ et BRAZDA (29) rapportent pour l'alligator un nombre moyen de globules, pour 29 déterminations effectuées, de $481\ 000/\text{mm}^3$; les globules blancs représentant en moyenne 6,84 % de ce nombre.

HERNANDEZ et COULSON (74) ont dénombré environ 1 million de globules/ mm^3 , aussi bien chez l'iguane noir que chez l'iguane commun. Notons que cette valeur représente plus du double de celle qu'ils avaient trouvé chez l'alligator.

Madame JOY et DASTUGUE (1941) (87) ont rapporté 1 120 000 globules rouges/ mm^3 dans le sang de Vipera aspis.

HUTTON (1958) (81) ayant noté que des numérations de globules rouges avaient été faites précédemment chez les serpents (WINTROBE (162) - BERGMAN (14)), en a effectué lui-même (en chambre Neubauer standard) sur le sang de ses serpents terrestres et aquatiques :

- <u>Lampropeltis</u> :	782 400/ mm^3	(Limites : 538 000 - 1 027 000)
- <u>Coluber</u> :	887 500/ mm^3	(Limites : 730 000 - 1 075 000)
- <u>Natrix</u> :	756 900/ mm^3	(Limites : 570 000 - 885 000)
- <u>Agkistrodon</u> :	587 700/ mm^3	(Limites : 468 000 - 697 000)

L'hémolyse des hématies n'a pas, à notre connaissance, été étudiée chez les Reptiles. Nous rapporterons, dans notre étude expérimentale, les résultats de notre appréciation de la résistance globulaire chez Vipera aspis.

La composition minérale des globules rouges, totalement différente de celle du plasma, avait été abordée par Madame JOY et DASTUGUE (1943) (89), qui ont trouvé une valeur du chlore globulaire de 1,93 g/l chez la Vipère. Mais les travaux sur ce sujet ont été rares et ce n'est qu'en 1969 que DIETZ et BRODIE (45) nous ont fait connaître les concentrations en sodium et potassium des hématies du serpent Pituophis. Ces concentrations étaient calculées à partir de la différence entre les concentrations dans le sang total et dans le sérum, en tenant compte de la valeur de l'hématocrite. Pour leurs dosages dans le sang total, ces auteurs réalisaient l'hémolyse avec de l'eau distillée ; l'hémolysat était déprotéinisé avec de l'acide trichloracétique, et les ions sodium et potassium étaient dosés par photométrie de flamme, les solutions étalons contenant de l'acide trichloracétique dans les mêmes proportions. Les valeurs faibles du sodium globulaire, élevées du potassium globulaire, se retrouvent chez la plupart des animaux :

	SODIUM Globulaire mM/l cell.	POTASSIUM Globulaire mM/l cell.
PITUOPHIS adulte à 25°C	18 ± 6	98 ± 7
- nouveau-né à 25°C	21 ± 5	107 ± 7
- nouveau-né à 14°C	20 ± 5	115 ± 2
- embryon à 14°C	49	64

Tableau N°4 : Composition minérale globulaire

La différence des concentrations entre serpents adultes et nouveaux-nés était statistiquement significative ; les concentrations plus élevées en sodium et plus faibles en potassium trouvées pour l'embryon pouvaient être dues à la température plutôt qu'au stade de développement.

Des dosages de l'hémoglobine ont été réalisés par COULSON, HERNANDEZ et BRAZDA (29) chez l'Alligator ; 15 de ces dosages ont donné une moyenne de 7 g/100 ml avec des valeurs limites de 5 et 9,2 g/100 ml. Dans leur étude de la biochimie de l'Iguane, HERNANDEZ et COULSON (74), rapportent 6 g/100 ml pour l'iguane noir Ctenosaura acanthura, et 7,1 g/100 ml pour l'iguane commun Iguana iguana, ce qui représentait respectivement une moyenne par globule de 58.10^{-12} et 68.10^{-12} g, ou encore un pourcentage de concentration dans les globules de 18 et 23 %.

HUTTON (1961) (83) a dosé l'hémoglobine de ses 11 tortues Pseudemys. La moyenne de ses résultats, sans distinction de sexe, est de 7,3 g/100 ml.

STENROOS et BOWMAN (143) utilisaient la technique de CROSBY et Coll. (31) pour déterminer les concentrations en hémoglobine du sang de leurs 4 espèces de tortues. Ces concentrations moyennes sont notées dans le tableau N°5. Ces auteurs rapportent des valeurs de l'hémoglobine de 6,35 et 9,25 g/100 ml, respectivement en juillet et en août chez Chrysemys picta belli, ce qui constitue une différence significative, vraisemblablement due à une hémococoncentration par perte d'eau du sang. Ils rappellent que KAPLAN et RUEFF (90) ont montré des variations saisonnières dans la teneur en hémoglobine de Pseudemys scripta elegans et admis une valeur approximative de 5 g/100 ml pendant les mois d'été.

Madame MORGAND-LAUMIN (114) a effectué le dosage de l'hémoglobine de Vipera aspis sous forme d'oxyhémoglobine. Ce dosage consistait en un premier temps à obtenir une courbe étalon à partir d'un échantillon de sang de vipère dont elle déterminait la teneur en hémoglobine par dosage photométrique du fer à l'état de sulfocyanate ferrique. Un deuxième temps était le dosage proprement dit, l'hémoglobine en présence d'oxygène dissous étant pratiquement transformée entièrement en oxyhémoglobine. Les résultats de ce chercheur, sur 35 animaux de sexe mâle, ont donné une valeur moyenne d'hémoglobine de 8,7 g/100 ml de sang total.

Les hémoglobines de Vertébrés ayant montré une grande hétérogénéité, DESSAUER. FOX et RAMIREZ (1957) (41) ont tenté d'établir précisément une corrélation entre cette hétérogénéité et la phylogenèse des Amphibiens et des Reptiles. Ils ont pour cela réalisé l'électrophorèse sur papier de solutions d'hémoglobine préparées à partir du sang de 330 spécimens appartenant à 86 espèces d'Amphibiens et de Reptiles. Ce sang était recueilli par ponction cardiaque chez des animaux à jeun et anesthésiés, les globules en étaient lavés

puis hémolysés dans l'eau distillée. Les solutions d'hémoglobine, qui pouvaient subir des préparations additionnelles (telle que apport de toluène) afin d'éliminer certaines substances perturbant la mobilité électrophorétique ou l'adsorption sur papier, étaient soumises à l'électrophorèse sur papier, les hémoglobines humaines A et S servant de références standards.

Certaines de ces solutions migraient en une seule fraction hémoglobinique, d'autres contenaient une fraction majeure et une fraction mineure de concentration plus faible. DESSAUER et Coll. ont présenté leurs résultats par famille afin d'en considérer la signification phylogénétique. Pour certaines tortues dont le sang contenait plusieurs fractions hémoglobiniques, une traînée de pigments était visible entre les fractions extrêmes, qui pouvait masquer les fractions de faible concentration. Ces auteurs ont fait migrer seule l'hémoglobine "lente" de la tortue Pseudemys scripta elegans au même niveau que l'hémoglobine S de référence ; ils ont fait migrer seule l'hémoglobine "rapide" du même animal à deux fois ce niveau. Mais le mélange de ces deux hémoglobines donnait à l'électrophorèse des spots de migration respectivement plus ét moins éloignés, une traînée de pigments marquant le papier entre les deux : une interaction serait apparue entre les deux hémoglobines.

Les hémoglobines des Crocodiliens migrent plus vite que l'hémoglobine A, l'hémoglobine de Alligator mississippiensis migrant plus lentement que celles de Caiman latirostris et Crocodylus acutus. Les hémoglobines du caïman et du crocodile migrent environ au même niveau. Les hémoglobines des lézards examinés ne migraient pas plus vite que l'hémoglobine A, à l'exception de celles des espèces Anolis carolinensis, Sauromalus obesus, Gerrhonotus coerulus et G. multicarinatus. Toutes les hémoglobines des serpents envisagés migraient plus lentement que l'hémoglobine A, celles des Crotalidés et des Boïdés au même niveau que l'hémoglobine S ; celles des Colubridés, en général plus lentement que l'hémoglobine S, et la migration totale devenait alors trop faible pour révéler une orientation phylogénétique.

DESSAUER et Coll. concluaient que la comparaison des mobilités des hémoglobines d'animaux à lointaine parenté pouvait suggérer des orientations phylogénétiques, mais que cette méthode n'est pas toujours suffisante pour distinguer entre Amphibiens et Reptiles par exemple, ou Cheloniens et Crocodiliens, ou Sauriens et Serpents... Elle serait par contre plus valable en comparant des catégories taxonomiques moins élevées. Ces auteurs remarquaient

enfin qu'une étude combinée des mobilités électrophorétiques sur papier de l'hémoglobine et des protéines du plasma, pourrait permettre la description d'espèces biologiques, et éclaircir certains problèmes de la formation de ces espèces, d'autant plus que les techniques sont simples et que plusieurs échantillons peuvent être comparés en une seule migration électrophorétique.

Tableau N°5 : Teneur en hémoglobine du sang des reptiles

ESPECE	Nombre de specimens	Teneur en Hb g/100 ml sang	AUTEURS
Alligator mississippiensis	15	7	COULSON et Coll. 1950 (29)
Ctenosaura acanthura	7	6	HERNANDEZ et COUL- SON, 1951 (74)
Iguana iguana	9	7,1	Id
Pseudemys scripta elegans	11	7,3	HUTTON, 1961, (83)
Chrysemys picta belli	8	7,8	STENROOS et BOWMAN, 1968 (143)
Clemmys insculpta	2	5,8	Id
Pseudemys scripta elegans	3	6,3	Id
Emydoidea blandingi	3	5,1	Id
Pseudemys scripta elegans	?	5	KAPLAN et RUEFF, 1960, (90)
Vipera aspis	35	8,7	Mme MORGAND- LAUMIN 1969 (114)

CHAPITRE IV

PLAQUETTES SANGUINES - LEUCOCYTES

Aucun travail ne rapporte, à notre connaissance, de données sur les plaquettes sanguines des Reptiles. Madame JOY et DASTUGUE (1941) (87) n'en ont pas observé dans le sang de Vipera aspis, mais ont dénombré par contre 4 500 à 22 000 leucocytes/mm³ de sang.

Rappelons que COULSON et coll. (1950) (29) ont noté que les globules blancs représentent 6,8 % du nombre total de globules chez l'Alligator.

oOo

CHAPITRE V

ETUDE DE LA COAGULATION DU SANG

ZAIN - UL - ABEDIN et KATORSKI (1966) (164), à l'occasion de recherches biochimiques sur le lézard Uromastix hardwickii, ont observé que la coagulation de son sang demandait un long moment, et parfois même n'était pas complète. Ils ont remarqué aussi que le sang de ce reptile du désert était beaucoup plus long à coaguler quand prélevé pendant l'hibernation plutôt qu'en période active. Ces auteurs ont donc recherché la présence de fibrinogène, et ont soumis le plasma et le sérum du lézard à l'électrophorèse sur papier : le tracé obtenu avec le plasma ne présentait pas de pic de fibrinogène, et était semblable à celui du sérum, à l'exception du pic des β -globulines un peu plus haut pour le plasma. Cependant, un dosage chimique du fibrinogène donnait 63 mg/100 ml en période d'hibernation et 71 mg/100 ml en période active : ces valeurs, bien que faibles, pouvaient laisser supposer alors que le fibrinogène migrait avec une des globulines. De plus, la différence du contenu du plasma en fibrinogène entre les deux périodes ne suffit pas à expliquer l'allongement du temps de coagulation pendant l'hibernation ; il serait plutôt dû à des facteurs extérieurs, tels que la température en particulier, dont l'influence est prouvée sur une réaction de coagulation. Les auteurs ont poursuivi l'étude de la coagulation en effectuant le dosage du calcium sérique : la valeur moyenne trouvée pour 7 déterminations était de 108 mg/l (même en hibernation simulée), donc proche de la valeur moyenne chez l'Homme. D'autre part, la mesure du temps de Quick révélait seulement une légère augmentation par rapport au temps admis pour un sérum humain normal. En conclusion, l'augmentation du temps de coagulation paraissait être due à une faible teneur en fibrinogène du sang des lézards.

HACKETT et HANN (1967) (69) ayant observé la coagulation lente du sang des Reptiles, ont travaillé sur le lézard australien Trachydosaurus rigosus. Ils ont montré que l'allongement du temps de coagulation était dû à une faiblesse de l'activité intrinsèque de la thromboplastine d'une part, à une activité anti-thrombine naturelle d'autre part ; cette dernière devenait prépondérante du fait précisément que la faiblesse en thromboplastine produisait un ralentissement de la production de thrombine à partir de la pro-thrombine. Ces chercheurs ont conclu en commentant que la coagulation lente du sang des Reptiles est un exemple naturel de l'état artificiel recherché pour le sang humain dans les traitements contrôlés sous anticoagulants.

oOo

CHAPITRE VI

PROTEINES PLASMATIQUES

1°/ - ETUDE ELECTROPHORETIQUE

Les protéines sériques ou plasmatiques d'animaux divers ont été étudiées par différentes techniques d'électrophorèse. Déjà, en 1945, DEUTSCH et GOODLOE (43), puis, en 1949, DEUTSCH et Mc SHAN (44) pouvaient conclure que la mobilité électrophorétique, la valeur et le nombre des protéines sériques présentent des variations caractéristiques de chaque espèce animale. L'expérimentation de DEUTSCH et Mc SHAN en 1949 a porté en particulier sur le sérum de 5 espèces de serpents :

- Natrix sipedon
- Lampropeltis triangulum
- Agkistrodon piscivorus
- Crotalus atrox
- Crotalus horridus

et sur le sérum de 2 espèces de tortues :

- Amyda spinifera
- Chelydra serpentina

Sans chercher à identifier chaque composant protéinique comme étant par exemple de l'albumine ou une globuline, ils ont cependant noté que les tracés électrophorétiques étaient assez nettement différenciables pour révéler de façon absolue une spécificité d'espèce. Ceci était encore vérifié

lorsqu'il s'agissait de serpents aussi apparentés que Crotalus atrox et Crotalus horridus. De même pour les tortues, les diagrammes électrophorétiques des deux espèces étudiées font apparaître une absence totale de similitude, Chelydra serpentina possédant en grand nombre des protéines à mobilité faible, contrairement à Amyda spinifera. Ces mêmes auteurs avaient d'autre part remarqué la présence très diminuée ou même l'absence d'un composant à migration rapide.

En 1953, GLEASON et FRIEDBERG (66) réalisant des électrophorèses sur papier filtre du sérum de petits animaux en utilisant l'appareil décrit par CREMER et TISELIUS en 1950 (30) et KUNKEL et TISELIUS en 1951 (100), reprenaient en particulier le cas de la tortue Amyda spinifera. Le tracé obtenu, séparant au moins 7 composants protéiques, sans être exactement identique à celui de DEUTSCH et Mc SHAN, leur permettait cependant de parvenir aux mêmes conclusions. Ils rapportent de plus une teneur en protéines totales relativement plus faible que celle des Mammifères.

BUEKER (1961) (21) avait plus précisément ses études sur une comparaison entre les échantillons électrophorétiques obtenus avec le sérum humain d'une part et le sérum d'animaux inférieurs d'autre part. Parmi ces animaux se trouvait la tortue Pseudemys elegans et l'électrophorèse sur papier de son sérum aboutissait à la séparation en composants protéiques dont les valeurs en pourcentage et les mobilités étaient comparées avec celles des composants albumine, globuline α , globuline β et globuline γ du sérum humain. Il était alors confirmé l'absence d'une protéine comparable à l'albumine humaine dans le sérum de la tortue. Quant aux protéines totales, elles représentaient environ 45 % de leur valeur chez l'homme.

Les tortues Pseudemys ont d'ailleurs fait l'objet d'une étude approfondie de la part de ZWEIG et GRENSHAW (1957) (169), qui ont analysé les échantillons d'électrophorèse sur papier du sérum de 3 espèces du genre Pseudemys :

- Pseudemys scripta (Floride, Kansas, Louisiane, Mexique)
- Pseudemys nelsoni (Floride)
- Pseudemys floridana (Floride, Louisiane)

Les techniques qu'ils utilisèrent étaient celles décrites par DURUM (18) et, malgré que des différences frappantes aient été observées entre les espèces, les résultats indiquaient en général que la fraction à migration la plus rapide, notée V, se déplace environ comme les α_1 -globulines humaines ; il apparaissait donc encore qu'aucune des protéines sériques de tortue n'est comparable à l'albumine humaine. D'autre part, ZWEIG et CRENSHAW ont noté une fraction à mobilité cathodique, semblable à la γ -globuline humaine. Quant aux différences observées, la plus marquée provenait du fait que Pseudemys scripta et Pseudemys nelsoni ont une simple bande V alors que Pseudemys floridana montre une double bande (V et V') de même mobilité que V. Bien que la concentration en protéines totales ait été plus élevée dans le sérum de Pseudemys nelsoni que dans celui de Pseudemys scripta, ces auteurs ont cependant conclu à une proche parenté entre ces espèces, ce qui n'est pas le cas avec Pseudemys floridana.

DESSAUER et FOX (1956) (36) ont examiné environ 1 200 tracés électrophorétiques du plasma de plus de 800 spécimens d'Amphibiens et de Reptiles. Ils ont tout d'abord trouvé des différences dues au sexe, à l'âge, au manque de nourriture, à la saison, à la variation géographique, ce qui prouve l'influence des facteurs génétiques et physiologiques sur la composition protéique du plasma. De plus, l'établissement d'une fiche consignant des données telles que la migration totale, le mouvement vers l'anode ou la cathode, la présence ou l'absence de fractions spécifiques, leur permettait de rapporter un spécimen précis de reptile à son ordre propre en fonction du tracé de son plasma.

Simultanément, DESSAUER et FOX (37) publiaient par ailleurs une étude comparative, par électrophorèse sur papier, des protéines plasmatiques d'Amphibiens et de Reptiles ; cette étude conclut à une distinction possible entre Reptiles, à 2 niveaux : tout d'abord entre serpent-roi, serpent d'eau et serpent "racer" ; ensuite entre grenouilles, salamandres, crocodiles, tortues, lézards et serpents. D'autre part, la migration était différente lorsqu'il s'agissait d'un échantillon adulte ou d'un spécimen jeune. De même, ils notaient des différences en fonction du sexe.

BARIL, PALMER et BARTEL (1961) (8) ont réalisé l'analyse électrophorétique du sérum de jeune alligator, sur gel d'amidon et sur bandes d'acétate de cellulose en particulier. Ayant arbitrairement désigné les pics

obtenus, dans l'ordre de mobilité décroissante, par albumine, α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , et γ globulines, ils ont noté que le rapport moyen $\frac{\alpha\text{-globuline}}{\text{albumine}}$, pour 30 mesures, était de 3,4 donc une nette prépondérance de la fraction α -globuline. Le rapport précédent avoisinait ainsi la valeur connue pour le sérum d'êtres humains atteints de maladies rénales. Ensuite, par l'étude des solubilités relatives dans le sulfate d'ammonium, la mesure des coefficients respectifs de sédimentation, et l'observation des mobilités relatives par rapport à l'albumine sérique de lapins et de bovins, BARIL et Coll. ont assimilé avec certitude les deux premiers composants du sérum d'alligator à l'albumine et à l' α -globuline.

Le tracé électrophorétique du sérum de jeunes alligators a été comparé ensuite à ceux de deux nouvelles espèces de Reptiles, le caïman Caïman sclerops et le crocodile Crocodylus acutus, étudiés en 1967 par RIDER et BARTEL (132). Les pics obtenus étant toujours marqués arbitrairement par ordre de mobilité décroissante, ils ont noté la migration rapide de l'albumine et la prédominance de l' α -globuline, de même que l'avaient noté DESSAUER et FOX (1956) (36) après électrophorèse sur papier du sérum de Crocodylus acutus. Ayant établi que le composant principal des trois sérums de caïman, d'alligator et de crocodile est une α -globuline, RIDER et BARTEL rapportent cependant des différences très nettes dans le tracé du caïman par rapport à ceux d'alligator et de crocodile. Chez le caïman en effet, étaient présents deux composants à mobilité plus grande que l' α -globuline, appelés arbitrairement pré-albumine et albumine. Il était possible que le premier pic corresponde en fait à l'albumine et que le second constitue une autre α -globuline ; ce problème ne peut être résolu que par analyse immuno-électrophorétique. De toute façon, il restait possible de conclure qu'un rapport élevé $\frac{\text{globuline}}{\text{albumine}}$ paraissait être caractéristique des Crocodiliens.

FINE, GROULADE et EYQUEM (1954) (55) ont examiné les différentes fractions des protéines sériques et plasmatiques chez deux espèces de Reptiles : Vipera aspis, qui nous intéresse particulièrement et fera l'objet de notre étude expérimentale, et Vipera ursini. Le protéinogramme sur papier montrait six fractions qui étaient classées par analogie avec le protéinogramme humain :

- 2 fractions albumine, A1 et A2, A2 ayant une migration identique à l'albumine humaine ;
- Les globulines α ;
- Les globulines β , distinguées en globulines β_1 et globulines β_2 ;
- Les globulines γ subissant les plus grandes variations.

FINE et ses collaborateurs ont exprimé ces différentes fractions en pourcentage et ont résumé les valeurs moyennes obtenues dans le tableau N°6 que nous reportons ci-dessous :

	Sérum humain	Sérum de <u>Vipera aspis</u>	Sérum de <u>Vipera ursini</u>
Protéines totales	72,0 ($\pm$ 4,9)	55,1 ($\pm$ 3)	59,1 ($\pm$ 1,05)
Albumines : A1	-	7,4 ($\pm$ 1,7)	9,5 ($\pm$ 2,15)
A2	60,2 ($\pm$ 3,9)	31,1 ($\pm$ 4,85)	26,8 ($\pm$ 4,87)
Globulines : α_1	3,3 ($\pm$ 0,9)	-	-
α_2	7,6 ($\pm$ 1,8)	14,1 ($\pm$ 3,75)	12,6 ($\pm$ 1,07)
β_1	-	17,4 ($\pm$ 1,1)	19,0 ($\pm$ 1,68)
β_2	12,4 ($\pm$ 2,3)	14,15 ($\pm$ 2,6)	16,01 ($\pm$ 1,4)
γ	16,5 ($\pm$ 2,8)	15,85 ($\pm$ 4,95)	16,0 ($\pm$ 2,5)

Tableau N°6 : Valeurs moyennes en pourcentage des différentes fractions protéiniques des sérums de reptiles comparées à celles des sérums humains.

L'étude électrophorétique du plasma montrait évidemment un pic supplémentaire, correspondant au fibrinogène, situé entre les globulines β et γ . Nous reviendrons nous-mêmes plus tard dans ce travail sur les protéinogrammes, glucoprotéinogrammes et lipidogrammes de Vipera aspis.

De la même manière que FINE et Coll., PLAGNOL et VIALARD-GOUDOU (1956) (121) ont procédé à l'étude par micro-électrophorèse sur papier des sérums de trois autres espèces de serpents :

- Naja sputatrix Boie (Colubridae)
- Ancistrodon rhodostoma Boie (Viperidae)
- Trimeresurus gramineus Shaw (Viperidae)

Pour les protéines sériques du cobra, ils rapportent un dédoublement de la fraction α_1 des globulines, une diminution du pourcentage de l'albumine et une augmentation de celui des globulines α_2 . Chez les vipères, Ancistrodon rhodostoma et Trimeresurus gramineus, ils observent un dédoublement des albumines sériques et une diminution considérable du pourcentage des γ -globulines.

La coloration des glucidogrammes par la méthode de BENHAMOU, PUGLIESE, CHICHE et AMOUCH (13) permettait d'observer chez le cobra la situation des glucides sur l'albumine et les β -globulines et chez les vipères sur les deux fractions albuminiques.

La coloration des lipidogrammes par la méthode de SWAHN (149) au Soudan noir permettait de constater que les lipides liés se retrouvent chez le cobra et chez les vipères sur les β -globulines.

URIEL, FINE, COURCON et LE BOURDELLES (152) ont publié un travail électrophorétique en gélose selon la technique de GRABAR et WILLIAMS (68), fait sur les sérums d'animaux divers ; parmi ceux-ci, on retrouve les Reptiles représentés par Vipera aspis. Ce travail purement qualitatif donne un aperçu général de la distribution des protéines et lipoprotéines, en utilisant un sérum humain normal comme témoin. Il en ressort que le sérum de vipère ne semble pas contenir de protéine à mobilité analogue à celle des γ -globulines humaines, mais ces chercheurs reconnaissent qu'ils manquent de données immunochimiques complémentaires ; par contre le sérum de Vipère contiendrait une fraction pré-albumine quantitativement très importante. URIEL et

ses collaborateurs notent que le sérum de Vipère présente un constituant lipoprotéique majeur de même mobilité que la sérum-albumine. Ils concluent en insistant sur le fait qu'il est difficile de comparer des résultats obtenus par électrophorèse en gélose et sur papier, vues les conditions de travail non superposables et la nature différente des supports.

LAFITI, SHAMLOO et AMIN (101) ont entrepris des électrophorèses sur papier et sur gel d'amidon des protéines du sérum de plusieurs espèces de serpents d'Iran qui sont :

- Natrix tessellata
- Coluber jugularis asianus
- Coluber jugularis erythrogaster
- Coluber jugularis caspicus
- Vipera lebetina turanica
- Naja naja oxiana

La nomenclature qu'ils adoptèrent était précisément celle donnée précédemment par FINE et ses collaborateurs d'une part et PLAGNOL et VIALARD-GOUDOU (121) d'autre part ; leurs résultats purement qualitatifs à cause d'un nombre de spécimens limité, faisaient apparaître des tracés presque identiques d'électrophorèse sur papier pour les serpents du genre Coluber, mais des différences entre les tracés sur gel d'amidon. De plus, Vipera lebetina et Naja naja oxiana différaient des autres espèces par des zones de protéines plus rares à l'électrophorèse sur papier. LAFITI et ses collaborateurs suggéraient que ces différences électrophorétiques étaient associées à l'éloignement phylogénétique entre ces Reptiles.

Nous pensons d'ailleurs que c'est là un point capital commun rapporté par tous les chercheurs qui se sont intéressés aux caractéristiques électrophorétiques des protéines sériques des Reptiles.

2°/ - ETUDE DE L'ALBUMINE

Les protéines sériques des Reptiles ayant été vues dans leur ensemble sous l'aspect électrophorétique, l'importance de la fraction albumine est ainsi mise en évidence, et certains auteurs ont précisément basé leurs études sur ce point particulier.

COHEN (1954) (25) après un rappel de travaux précédents sur cette question, détermine par la méthode du biuret de GORNALL et Coll. (67) la valeur des protéines totales et de la fraction albumine chez un grand nombre de serpents et de tortues ; le sang de ces animaux était prélevé respectivement par décapitation et ponction cardiaque. Ses conclusions révèlent que la valeur moyenne des protéines totales est semblable pour les sérums de serpents et de tortues, mais que par contre la teneur en albumine diffère très nettement, étant doublée chez le serpent par rapport aux tortues. Quelques années plus tard (1958), avec STICKLER (27), COHEN traitait même de l'absence d'une protéine comparable à l'albumine dans le sérum de tortues appartenant à trois familles principales représentées par les espèces suivantes :

- Chelydra serpentina (Chelydridae)
- Dermochelys coriacea (Dermochelidae)
- Clemmys insculpta et Testudo gigantea (Testudinidea)

En effet, d'une part l'analyse électrophorétique effectuée parallèlement pour un sérum humain et un sérum de tortue, d'autre part l'analyse par la méthode du biuret après fractionnement éther-sel (qui ne donne qu'une faible réaction), suggéraient une telle conclusion. Les protéines sériques de Rat et d'Alligator étaient d'ailleurs comparées par la méthode du biuret à celles de la Tortue, et le tableau suivant, N°7, particulièrement intéressant, était établi :

Protéine	Rat (g/100 ml)	Alligator (g/100 ml)	Tortue (g/100 ml)
Protéines totales	5,95	5,80	2,20
Albumine + α -globulines	3,12	1,80	2,03
Albumine	2,14	0,70	0,00
α -Globulines	0,98	1,10	2,03
Autres globulines	2,83	4,00	0,17

Tableau N°7 : Protéines sériques de rat, alligator et tortue

Mentionnons ici, en marge de cette étude de l'albumine, que COHEN a publié en 1955 (26) une étude immunologique des protéines sériques de quelques Reptiles, où il conclut que l'Alligator est sérologiquement plus apparenté à la tortue Chelydra qu'au lézard Varanus ou au serpent Coluber. Il révèle aussi que le serpent de mer Lapemis et le Naja, ou cobra, sont plus apparentés l'un à l'autre qu'ils ne le sont au crotale. Enfin, que le crotale pigmée Sistrurus est plus proche parent du crotale vrai que du mocassin Agkistrodon, avec qui il partage quelques traits morphologiques.

Plus récemment (1968), MASAT et DESSAUER (106) ont procédé à une étude très complète des albumines plasmatiques des Reptiles. Ils ont posé la question de savoir si leur sang contient ou non une protéine semblable à l'albumine, et ont tenté l'identification sur la base des propriétés physico-chimiques de celle-ci, c'est-à-dire en particulier le poids moléculaire, la solubilité, la mobilité électrophorétique. Le plasma de quinze espèces de Reptiles était analysé, ces espèces appartenant aux principaux ordres suivants : Cheloniens, Crocodiliens, Sauriens et Serpents. Après séparation des protéines plasmatiques en 3 fractions principales et estimation des poids moléculaires par filtration sur gel en couche mince, MASAT et DESSAUER ont observé que la fraction de poids moléculaire faible représentait un plus fort pourcentage chez l'Homme que chez les Reptiles, et devenait minimale dans le plasma de tortue. Cette fraction était étudiée spécialement, et comprenait, outre une transferrine et des composants mineurs, une protéine à propriétés semblables à l'albumine humaine. La solubilité était étudiée dans l'eau distillée, dans des solutions de sulfate d'ammonium et dans le Rivanol 2 %. Cette protéine présentait de plus la migration électrophorétique la plus élevée, donc la densité de charge la plus importante. Enfin, ces auteurs indiquent l'importance de l'albumine comme facteur principal de la pression osmotique colloïdale, en particulier chez certains lézards adaptés à la vie en milieux secs et chauds. Ceci expliquerait le fait qu'à l'opposé, le plasma des tortues d'eau douce ne contient qu'une faible proportion d'albumine, la pression osmotique colloïdale y étant relativement basse. Des albumines à mobilité semblable à celle de l'albumine humaine ont cependant été trouvées chez des espèces de tortues appartenant aux genres Dermatemys, Kinosternon, Stenotherus, Staurotypus et Chelodina.

3°/ - INFLUENCE DE FACTEURS EXOGENES

MASAT et MUSACCHIA (107) avaient pris pour but de reconnaître les variations saisonnières au niveau des protéines sériques de la tortue Chrysemys picta. Ayant tout d'abord observé 3 facteurs principaux subissant des variations dans l'environnement naturel des animaux :

- La température,
- La vitesse de changement de la température,
- La nourriture,

et les ayant étudié expérimentalement, ils ont conclu que ces paramètres n'étaient pas responsables d'une altération significative du taux de protéines.

Cette concentration en protéines du sérum, mesurée par la méthode du biuret, était en général de l'ordre de 4 à 7 g/100 ml de sérum (valeur moyenne voisine de 5 g/100 ml) et les fluctuations saisonnières étaient mises en évidence :

Les valeurs maxima de protéines sériques étaient observées au printemps après une période de jeûne, en même temps que les valeurs minima de l'hématocrite ; l'inverse se produisait en été et en hiver. Cette variation des valeurs de l'hématocrite pour Chrysemys picta est d'ailleurs semblable à celle rapportée précédemment pour Pseudemys scripta par KAPLAN et RUEFF (90) et correspond à une variation de l'hémoconcentration. L'augmentation du taux de protéines après le jeûne, et avant même la reprise de l'alimentation serait expliquée par la possibilité pour la Tortue de stocker puis de remobiliser ses protéines.

KHALIL et ABDEL-MESSEIH (1963) (94) ont étudié les protéines sériques de Reptiles provenant d'habitats différents. Les animaux qu'ils utilisèrent sont classés en :

1. - Reptiles aquatiques :

- . Crocodilus niloticus, crocodile amphibien
- . Tropidonotus tessellatus, serpent amphibien

2. - Reptiles du semi-désert :

- . Coluber florentus, serpent du semi-désert
- . Chalcides ocellatus, lézard du semi-désert

3. - Reptiles du désert :

- . Varanus greseus, lézard du désert
- . Testudo leithii, tortue du désert

Ces auteurs ont montré que la concentration des protéines sériques dans 100 ml de sang variant de 6,15 g à 6,91 g est pratiquement indépendante de l'habitat, et qu'elle est d'autre part du même ordre de grandeur que chez les Mammifères (5 à 8 g/100 ml de sang). Mais, par contre, les concentrations respectives en albumine et globulines présentaient des différences notoires : tout d'abord la fraction albumine est moins importante et les globulines plus élevées chez les Reptiles que chez les Mammifères. De plus, les Reptiles aquatiques possèdent une fraction albumine plus faible et une concentration en globulines plus importante que les Reptiles terrestres, d'où un rapport $\frac{\text{albumine}}{\text{globulines}}$ plus bas chez les Reptiles aquatiques. Ceci est en accord avec une

faible teneur en eau du sang de ces Reptiles, et à l'opposé avec le fait déjà noté que l'albumine est responsable chez les Reptiles du désert d'une pression osmotique colloïdale élevée capable de retenir l'eau. Des observations analogues sur la teneur en eau du sang des Mammifères ont été rapportées depuis très longtemps, en particulier par CUTTING et CUTTER (1935) (32), ASHER et HORACE (1939) (3), et YOUMANS (1950) (163).

Nous venons donc de constater successivement la possibilité de variations dans les protéines sériques en fonction des saisons puis en fonction de l'habitat. DESSAUER et FOX (1958) (38) ont décrit la nature de variations géographiques en étudiant divers échantillons de plasmas de serpents :

- Serpent-roi commun, Lampropeltis getulus
- Serpent "racer", Coluber constrictor
- Serpent d'eau commun, Natrix sipedon
- Serpent "jarretièr", Thamnophis sirtalis

Ces échantillons de plasmas étaient soumis à l'électrophorèse sur papier, sur bandes parallèles pour éviter des variations dues à l'appareillage lui-même. Deux groupes distincts de fractions protéiniques apparaissaient, l'un, dit Groupe lent, réunissant les fractions à mobilité faible ; l'autre, dit Groupe rapide, réunissant les fractions à migration rapide. Les protéines du groupe rapide sont peu affectées par des facteurs physiologiques tels que l'âge ou le sexe de l'animal et donnent des résultats sensiblement uniformes pour des spécimens d'une même population. C'est donc à leur niveau que DESSAUER et FOX ont relevé des variations intéressantes.

Ils rapportent en premier l'exemple de variations géographiques trouvées pour Lampropeltis getulus : la fraction de tête à l'électrophorèse migre en une simple bande lorsqu'il s'agit d'un spécimen de Californie, alors que deux bandes sont observées pour les spécimens du Sud-Est des Etats-Unis. De même pour Coluber constrictor dont le spécimen de New-York voit son plasma donner deux bandes bien distinctes pour la fraction de tête à l'électrophorèse, alors que des spécimens d'autres régions (Louisiane par exemple) ne présentent qu'une seule bande. Quant aux échantillons de plasmas des serpents d'eau Natrix sipedon, dont le Groupe rapide à l'électrophorèse comporte 3 fractions, ils montrent plus souvent des différences quantitatives au niveau de fractions protéiniques de mobilité semblable ; les auteurs citent par exemple la différence notée entre un échantillon de Natrix sipedon clarki et celui de Natrix sipedon confluens, serpent d'une région voisine mais moins saline. Enfin, les protéines du Groupe rapide dans le plasma de Thamnophis sirtalis, séparées également en 3 fractions, montrent des différences à la fois dans leur ordre de migration et dans leurs valeurs relatives ; et c'est ainsi qu'apparaissent des différences régionales entre les sous-espèces.

DESSAUER et FOX précisent cependant que cette seule technique d'électrophorèse sur papier ne peut suffire pour conclure vraiment et aboutir à une classification.

4° / - INFLUENCE DE CERTAINS STEROIDES⁽¹⁾

RAO et DAVID (1967) (127) ont étudié l'action de certains stéroïdes et leur pouvoir anabolique sur les concentrations en protéines du sérum du lézard Uromastix hardwickii.

RAO et DAVID ont donc injecté par voie intrapéritonéale sous forme de suspension dans l'huile d'olive, 11 stéroïdes différents, à des lézards femelles sexuellement inactifs. Ils injectaient 20 mg de stéroïdes en 4 fois à 2 jours d'intervalle ; 48 heures après la dernière injection, le sang de l'animal était recueilli par ponction cardiaque et le sérum soumis à l'électrophorèse sur agar (GIRI, 1956) (65). Un colorimètre BECKMAN permettait de calculer le contenu en protéines totales par la méthode du biuret (GORNALL et Coll., 1949) (67).

Les résultats, analysés statistiquement, montraient que la plupart des stéroïdes androgéniques produisaient une augmentation des protéines totales du sérum ; l'augmentation était maximale et significative pour la 19-nortestostérone et minimale pour le 5-androstène 3 β 17 β diol. Les études électrophorétiques mettaient en évidence une augmentation significative de la teneur en α -globulines avec la 19-nortestostérone, l'androstérone, la testostérone et l'androstane 3 β 17 α diol. La même augmentation en albumine et en α -globulines était obtenue avec la méthyl-testostérone, l'adrénostérone, l'androstane 3,17 dione et la prégnénolone, pendant que l'on observait une diminution correspondante des γ -globulines. L'androstène 3 β 17 β diol et le 4-androstène 3,17 dione n'apportaient aucun effet sur les fractions protéiniques du sérum.

On peut se rendre compte du pouvoir anabolique d'un stéroïde en mesurant la rétention urinaire d'azote (HENDERSON et WEIBERG, 1951 (73) ; POTTS et Coll., 1960 (125) ; STUCKI et Coll., 1962 (144) ; ARNOLD et Coll., 1963 (2)), l'activité myotropique (EISENBERG et Coll., 1949 (51) ; KOCHAKIAN et TILLOTSON, 1956 (99) ; DORFMAN et DORFMAN, 1963 (48) ; KINCL et DORFMAN, 1964 (97)), l'effet rénotrophique (KOCHAKIAN, 1947 (98) ; DORFMAN et SHIPLEY, 1956 (49)),

(1) Nous tenons à remercier Madame GACHON pour sa précieuse collaboration apportée à la rédaction de ce chapitre.

l'érythropoïèse (NATHAN et FRANCK, 1965 (116)), et d'autres effets divers tels que le métabolisme du calcium et du phosphore et l'augmentation avec la croissance du corps (KOCHAKIAN, 1947 (98)).

Les stéroïdes anaboliques stimulent la croissance du corps et la rétention d'azote, augmentant la masse des muscles et des reins en plus de la croissance des organes sexuels secondaires (KINCL, 1965 (96) ; DRILL et SAUNDERS, 1956 (50)) rapportent que la 19-norstestostérone produit une plus grande rétention d'azote que la méthyl-testostérone et la testostérone.

Cependant, NIMNI et GEIGER (1957) (119), pensaient que la croissance du muscle provoquée par l'hormone n'est pas un indice approprié pour déterminer les effets anaboliques des stéroïdes.

L'analyse chimique du sang de malades atteints de myopathies, après un traitement de 5 à 6 mois au décanoate de 19-nortestostérone montrait une augmentation significative dans le contenu en protéines totales et en calcium, mais les changements dans les différentes fractions de protéines n'avaient pas de signification statistique.

La cortisone entraîne une diminution des phagocytes réticulo-endothéliaux, et réduit le taux de γ -globulines (VAUGHAN et Coll., 1951 (158) ; NICOL et Coll., 1956 (117)).

SNELL et NICOL (1956) (140), rapportaient que les effets de la testostérone et de l'androstane 3β 17 α diol sont semblables à ceux de la cortisone en entraînant une action dépressive sur l'activité du SRE. La diminution des γ -globulines observée chez les Reptiles pouvait être due à l'action de ces stéroïdes sur le SRE.

Des recherches effectuées sur les oiseaux ont montré que, parmi d'autres effets (augmentation du taux de calcium du sérum), les injections d'oestrogènes provoquaient la synthèse de nouvelles protéines, inexistantes chez des oiseaux n'ayant pas reçu d'oestrogènes (SIMKISS, 1961 (138) ; SUZUKI, 1963 (147) ; URIST et SCHJEIDE, 1961 (153) ; DESSAUER et FOX, 1959 (39)). Ces chercheurs ont tous considéré que le foie en était à l'origine.

Des lézards adultes Sceloporus cyanogenys étudiés par SUZUKI et PROSSER (1968) (148), recevaient 250 mg de valérate d'oestradiol dans 0,05 ml d'huile de sésame. Les animaux témoins et traités étaient sacrifiés 5, 11, 15 et 42 jours après l'injection. Avant d'être tués, les lézards recevaient une injection de 100 UI d'héparine et le sang était recueilli par décapitation. Les protéines totales étaient déterminées en utilisant un Auto-Analyser TECH-NICON. L'électrophorèse était effectuée sur cellule Microzone BECKMAN, sur acétate de cellulose et tampon barbital.

La teneur en protéines totales passait de 4,2 g/100 ml chez les témoins à 10,3 g/100 ml pour un traitement de 6 semaines. Le tracé électrophorétique présentait 4 pics chez les animaux de contrôle, nommés, suivant leur mobilité décroissante, A, α , β , γ .

En ce qui concerne les protéines totales et les différentes fractions sériques, on n'observe aucune différence entre les animaux de contrôle et ceux traités 5 jours à l'oestradiol. Les animaux sacrifiés après 11 et 42 jours manifestaient une augmentation régulière non seulement dans les pourcentages relatifs, mais aussi dans les quantités absolues de γ -globulines. Les γ -globulines sont synthétisées en particulier dans les plasmocytes (ASKONAS et HUMPHREY, 1958 (4) ; MILLER et Coll., 1954 (111) ; MILLER et BALE, 1954 (110) ; NICOL et Coll., 1964 (118)), et l'oestrogène provoquant une hyperplasie de ces plasmocytes entraîne une production plus forte de γ -globulines. SUZUKI et PROSSER suggèrent donc que chez le lézard, l'oestrogène provoque une production accrue de γ -globulines par un mécanisme extra-hépatique. L'albumine paraissait diminuer en pourcentage relatif, mais ne différait pas significativement en quantité absolue entre les animaux de contrôle et d'expérience. Les rapports
$$\frac{\gamma\text{-globuline}}{\text{albumine}}$$
 augmentaient significativement au cours du traitement. Les pics α et β -globulines étaient facilement distincts chez les témoins, mais, soit disparaissaient, soit devenaient confluent avec le pic des γ -globulines dans les groupes expérimentaux. Il faut donc noter que la réponse aux oestrogènes est directement liée au temps.

CLARK (1967) (24), a voulu savoir si de petites doses d'oestradiol provoqueraient des changements dans les concentrations en protéines du sérum des tortues d'eau douce : Pseudemys scripta elegans, Chrysemys picta bel-li et Chrysemys picta picta. Il faisait des injections intra-musculaires

dans la région pectorale de 20 μ g d'oestradiol dans l'huile de césame et observait 3 semaines après une augmentation de 1,5 fois le taux normal chez les animaux des 2 sexes. Des échantillons de sérum pris chez Chrysemys picta picta femelles capturées depuis peu révélaient d'avril à juillet une hyperprotéïnémie qui généralement ne se produisait pas chez les mâles ; les concentrations en protéines chez les mâles étaient d'ailleurs assez variables. En définitive, on trouvait que l'augmentation naturelle du taux de protéines dans le sérum de femelles non traitées était plus importante que celle produite par 20 μ g d'oestradiol.

LASKOWSKI, 1936 (102) et DESSAUER et FOX, 1959 (39) avaient démontré que des changements marqués se produisaient dans la composition du sang des Vertébrés pendant la saison de formation des oeufs. BAILEY (1957) (6), montrait qu'il était possible de provoquer ces changements dans la composition du sang en d'autres saisons chez les femelles ou chez les mâles, par administration d'oestrogènes. L'injection de 0,5 mg de benzoate d'oestradiol provoquait une augmentation des protéines totales, atteignant 3 fois la normale 20 jours après.

DESSAUER et Coll. , 1956 (36) et DESSAUER et FOX, 1959 (39), étudiaient les concentrations en protéines du plasma de 14 formes de serpents Thamnophis et 10 formes de serpents d'eau Natrix pendant le cycle normal de formation de l'oeuf ; les protéines atteignaient un maximum juste au moment de l'ovulation et ensuite tombaient pendant la période de gestation au même niveau qu'en période d'anoestrus. Des changements similaires s'observaient après injection journalière d'oestradiol chez le mâle Thamnophis.

MASAT et MUSACCHIA (1965) (107) qui étudiaient les protéines du sérum tout au long de l'année chez Chrysemys picta ne trouvaient aucune variation du taux de protéines du sérum pendant la saison de formation des oeufs chez les femelles. A ce moment-là, les tortues avaient été gardées 6 mois, ce qui tendrait à prouver que de longues périodes de captivité inhibent la sécrétion d'oestrogènes, ainsi que les changements consécutifs à celle-ci.

5°/ - PROTEINES - ENZYMES

En 1966, BASTIDE, RIGAL et DASTUGUE (9) avaient relevé, chez Vipera aspis, des activités GOT et GPT plasmatiques plus faibles que chez les autres

espèces animales ; ils avaient trouvé également une nette activité leucine-amino-peptidasique dans les hématies.

EKRENSING (1964) (52) décelait une leucyl-naphtyl-amidase très active dans le plasma du serpent d'eau Natrix rhombifera, ainsi qu'une activité ocytocinasique quel que soit le sexe ; cette dernière n'apparaissait pas comme une fonction exclusive de la régulation des taux de l'ocytocine sanguine.

Selon BASTIDE, LAUMIN et DASTUGUE (1967) (10), l'activité ATP-asi-que est nulle au niveau du plasma de Vipera aspis.

La répartition de la phosphohexose-isomérase (PHI) dans quelques organes et humeurs de Vipera aspis (venin exclu) a été étudié par DASTUGUE, BASTIDE et MARTIN en 1965 (33) et, à la même époque, par MARTIN (105). L'activité phosphohexose-isomérasi-que était trouvée faible, mais appréciable au niveau du plasma.

Madame MORGAND-LAUMIN (1969) (114) a envisagé successivement l'étude des activités enzymatiques suivantes, dans les organes et humeurs de Vipera aspis :

- Lactico-deshydrogénase
- Cholinestérases
- Transaminases glutamique oxaloacétique et glutamique pyruvique
- Phosphatases acide et alcaline
- 5-nucléotidase
- Invertase
- Leucine amino-peptidase
- Adénosine triphosphatase
- Aldolase

L'équipement enzymatique de la vipère apparaissait d'une part très étendu, d'autre part doué d'une activité variable dans de grandes proportions.

CHAPITRE VII

LIPIDES PLASMATIQUES - CHOLESTEROL

Le cholestérol, représentant un fort pourcentage des lipides du sang, est un constituant dont le dosage est réalisé fréquemment.

JACKSON et LEGENDRE (1967) (86), ont publié un article traitant spécialement des taux du cholestérol sérique chez 11 espèces différentes de tortues appartenant à 2 familles : Testudinidés et Chelydridés. Les déterminations étaient faites par spectrophotométrie, réalisant la réaction de Lieberman selon la méthode de ZLATKIS et Coll. (1953) (168) sur des sérums provenant de sangs prélevés par ponction cardiaque chez des animaux à jeûn et anesthésiés au nembutal. Les résultats de ces chercheurs, que nous rapportons dans le tableau N°8, montrent que la valeur la plus haute et celle la plus basse correspondent aux espèces phylogénétiquement les plus éloignées. D'autre part, les deux plus faibles valeurs de cholestérol sérique correspondent aux deux espèces herbivores, Gopherus polyphemus et Pseudemys concinna suwanniensis ; une influence du régime pourrait donc être mise en cause.

Les dosages de cholestérol, toujours basés sur la réaction de Liebermann-Burchard, réalisés par STEENROOS et BOWMAN (143) sur le sérum de leurs 4 espèces de tortues : Chrysemys, Pseudemys, Emys et Clemmys, donnaient des résultats très variables, que nous consignons dans le tableau N°8. La variabilité des valeurs se retrouvait à l'intérieur d'une même espèce, sauf peut-être chez Pseudemys scripta elegans. Un jeûne de 7 jours imposé à cette tortue expliquerait par ailleurs la valeur particulièrement faible de son cholestérol sérique. L'élasticité des valeurs du cholestérol sérique chez les tortues serait fonction de l'importance des privations, et l'on doit mettre en parallèle la conclusion de JACKSON et LEGENDRE (86), qui mettaient en évidence l'influence du régime alimentaire.

LUCK et KEELER (1929) (103) ont dosé, par la méthode de MYERS et WARDELL (115), le cholestérol sérique des serpents à sonnettes dont ils étudiaient la chimie du sang. Ils rapportent une valeur de 172 mg/100 ml pour Crotalus oregonus, et de 100 mg/100 ml pour Crotalus atrox. Donc une différence assez importante entre les deux, due surtout à la faible teneur du sang de Crotalus atrox.

En 1940, DASTUGUE et MASSARANI montraient la richesse du plasma de Vipera aspis en lipides totaux et en cholestérol. Cinq dosages, correspondant chacun à une dizaine de vipères dont le sang était recueilli par décapitation donnaient une moyenne de 10 g/l pour les lipides totaux et de 3 g/l pour le cholestérol total.

Madame JOY et DASTUGUE (1943) (89) lors de leurs recherches sur la constitution chimique du sang de Vipera aspis, trouvaient une valeur de 3,9 g/l pour le cholestérol sérique total.

BLANC (1945) (17) a dosé le cholestérol sérique et le cholestérol vésiculaire chez de nombreux animaux, en particulier chez la Vipère. Il a trouvé respectivement 3,6 g/l et 0,47 g/l en moyenne, ce qui représente un rapport du cholestérol vésiculaire au cholestérol sérique de 0,13. BLANC pensait que ce rapport devait être considéré comme constante physiologique au même titre que les taux de cholestérol sérique et vésiculaire. Il remarquait que chez la Vipère un taux de cholestérol vésiculaire très faible s'opposait à une cholestérolémie très élevée, alors que chez l'Homme, le cholestérol vésiculaire très élevé (8,7 g/l) correspond à une cholestérolémie beaucoup plus faible (1,8 g/l).

Nous pourrions comparer ces résultats avec ceux que nous obtenons dans notre propre étude expérimentale sur Vipera aspis.

Tableau N°8 - Valeurs du cholestérol sérique chez les Reptiles

ESPECE	Nombre de spécimens	Cholesterol sérique (mg/100 ml)	AUTEURS
- Testudinidés			
Deirochelys r. réticularia	1	210	JACKSON & LEGENDRE 1967 (86)
Gopherus polyphemus	1	80	- id -
Pseudemys concinna suwanniensis	1	78	- id -
Pseudemys f. floridana	1	120	- id -
Pseudemys s. scripta	1	240	- id -
Terrapene carolina major	2	220-250	- id -
Terrapene carolina triunguis	1	160	- id -
- Chelydridés			
Chelydra s. serpentina	1	480	- id -
Kinosternon s. subrubrum	1	140	- id -
Macrochelys temminckii	1	240	- id -
Sternothaerus m. minor	2	330-350	- id -
Chrysemys picta belli	6	260,6 ± 25,7	STENROOS & BOWMAN 1968 (143)
Clemmys insculpta	3	343,3 ± 47,3	- id -
Pseudemys scripta elegans	2	68,5 ± 3,2	- id -
Emydoidea blandingi	5	253,4 ± 31,3	- id -
Crotalux atrox	-	99-101	LUCK & KEELER (1929)(103)
Crotalus oregonus	-	172	- id -
Vipera aspis	50	300	DASTUGUE & MASSARANI 1940
- id -	-	390	Mme JOY & DASTUGUE 1943 (89)
- id -	16	360	BLANC 1945 (17)

CHAPITRE VIII

CONSTITUANTS AZOTES NON PROTEIQUES

COULSON et Coll. (29), poursuivant leur étude de la biochimie du sang de l'Alligator, déterminaient l'ammoniac et l'urée par la méthode de VAN SLYKE et CULLEN (1916) (156), l'acide urique par la méthode de FOLIN (58) et BROWN (20), l'azote non protéique par la méthode du micro-Kjeldhal de HOWE (79) et la créatinine par la méthode de FOLIN et WU (59). Les valeurs trouvées pour tous ces constituants sont notées dans le tableau N°9. Les déterminations de l'azote non-protéique et de l'ammoniac, faites pendant les mois d'été, d'automne et d'hiver, s'avèrent supérieures à celles rapportées par HOPPING (78) et AUSTIN et Coll. (1927) (5), et montrent que l'ammoniac est le principal constituant azoté du sang de l'Alligator.

HERNANDEZ et COULSON (74), employant les mêmes méthodes que pour l'Alligator, rapportent (Tableau N°9) les valeurs trouvées pour l'urée, l'acide urique et la créatinine dans le sang total des iguanes.

LUCK et KEELER (103) utilisaient les méthodes de FOLIN et WU (1919) (59) et de VAN SLYKE et CULLEN (1914) (157) pour les dosages de l'urée, et ils ont conclu à ce sujet qu'une teneur très faible était une des caractéristiques de la composition sanguine de Crotalus, les valeurs obtenues étant assez basses pour tomber peut-être dans les limites de l'erreur expérimentale. Une si petite quantité d'urée serait liée au fait que l'acide urique est plutôt le résultat du métabolisme de l'azote. Précisément, la concentration en acide urique du sang de Crotalus, déterminée par la méthode indirecte de BENEDICT (11), est légèrement plus élevée que celle du sang des Mammifères. La créatinine était également dosée par la méthode de FOLIN et WU (59) et apparaissait de même grandeur dans le sang de Crotalus et dans celui des Mammifères. Enfin, le sang de Crotalus avait une teneur élevée en acides aminés,

et ceci était dû peut-être à la possession par l'animal d'hématies nucléées.

HUTTON (1958) (81) déterminait l'acide urique des serpents terrestres et aquatiques qu'il étudiait, par la méthode de FOLIN (1934) (58) ; et l'urée par la méthode de GENTZKOW et MASON (1942) (62). Les valeurs de l'azote non-protéique rapportées par lui sont nettement supérieures à celles de LUCK et KEELER (103) travaillant sur Crotalus atrox et Crotalus oregonus. De nouveau, les concentrations en acide urique apparaissent beaucoup plus élevées que les concentrations en urée, et l'auteur voit en cela un reflet de l'adaptation physiologique à la vie terrestre des serpents d'eau étudiés.

oOo

CONSTITUANT	ESPECE	Nombre de déterminations	Valeur moyenne	Valeurs limites	AUTEURS
NH ₃ mg % (sang total)	Alligator mississip.	21	61	18 - 98	COULSON & Coll. 1950 (29)
UREE mg %	Alligator mississip.	10	0	-	COULSON & Coll. 1950 (29)
	Ctenosaura acanthura	5	1.83	0.28 - 2.85	HERNANDEZ-COULSON 1951 (74)
	Ignana ignana	9	0.52	0 - 2.15	- id -
	Crotalus atrox	-	-	0 - 1.7	LUCK-KEELER 1929 (103)
	Crotalus oregonus	-	0	-	- id -
	Lampropeltis getulus	5	2.03	1.45 - 2.91	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	5	3.61	2.35 - 6.20	- id -
	Natrix sipedon	5	1.58	1.14 - 2.18	- id -
ACIDE URIQUE mg %	Agkistrodon piscivorus	6	4.89	0.92 - 8.18	- id -
	Alligator mississip.	42	2.25	0.96 - 4.23	COULSON & Coll. 1950 (29)
	Ctenosaura acanthura	5	3.53	1.53 - 5.16	HERNANDEZ-COULSON 1951 (74)
	Iguana iguana	9	4.95	2.63 - 8.96	- id -
	Crotalux atrox	-	-	1.2 - 2.6	LUCK-KEELER 1929 (103)
	Crotalus oregonus	-	1.5	-	- id -
	Lampropeltis getulus	5	5.51	3.66 - 9	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	5	5.69	4.36 - 6.90	- id -
	Natrix sipedon	5	6.02	2.89 - 7.80	- id -
	Agkistrodon piscivorus	6	5.47	4.36 - 7.80	- id -

Tableau N°9 - Valeurs des constituants azotés non-protéiques du sang des Reptiles (Suite)

CONSTITUANT	ESPECE	Nombre de déterminations	Valeur moyenne	Valeurs limites	AUTEURS
CREATININE mg %	Alligator mississip.	27	1.80	0.40 - 3.12	COULSON & Coll. 1950 (29)
	Ctenosaura acanthura	5	1.20	0.90 - 1.61	HERNANDEZ-COULSON 1951
	Iguana iguana	9	1.19	0.54 - 2.12	- id - (74)
	Crotalux atrox	-	-	1.1 - 1.3	LUCK-KEELER 1929 (103)
	Crotalus oregonus	-	1.20	-	- id -
	Lampropeltis getulus	5	1.40	1.15 - 1.90	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	5	0.60	0.30 - 1.15	- id -
AZOTE NON-PROTEIQUE mg %	Natrix sipedon	5	1.46	1.15 - 2.25	- id -
	Agkistrodon piscivorus	6	0.90	0.56 - 1.30	- id -
	Alligator missis. (sérum)	22	90.8	57.4 - 132.8	COULSON & Coll. 1950 (29)
	Crotalus atrox	-	-	18.8 - 25.3	LUCK-KEELER 1929 (103)
	Lampropeltis getulus	5	80.8	48 - 109.5	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	5	86.7	80 - 97	- id -
	Natrix sipedon	5	71.4	61.4 - 78.5	- id -
AZOTE DES ACIDES AMINES mg %	Agkistrodon piscivorus	6	78.7	60.4 - 87.7	- id -
	Crotalus atrox	-	-	14.7 - 17.9	LUCK-KEELER 1929 (103)
	Lampropeltis getulus	5	40.6	34.8 - 47.6	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	5	44.2	38.3 - 55.6	- id -
	Natrix sipedon	5	36	29.2 - 42.1	- id -
	Agkistrodon piscivorus	6	36.9	30.9 - 43.8	- id -

CHAPITRE IX

GLYCEMIE

Le glucose est un des constituants du sang tenant une place prépondérante, au point que les chercheurs y consacrent tout spécialement certains de leurs travaux. COULSON et HERNANDEZ, après avoir obtenu en 1950 avec BRAZDA (29) une valeur moyenne de 99 mg % pour la glycémie d'Alligator mississippiensis, en remarquant de très importantes variations saisonnières, ont publié (1952) (75) un article traitant de l'utilisation du glucose chez les Crocodiliens ; ils ont étudié la destinée du glucose injecté à l'alligator Alligator mississippiensis et au caïman Caïman latirostris, et les différents facteurs influençant son stockage et son métabolisme. Les dosages du sucre sanguin étaient réalisés par la méthode de FOLIN-WU. Les animaux utilisés pour ces expériences devaient observer auparavant un jeûne de trois jours ; en dehors des périodes d'expérimentation ils étaient nourris deux fois par semaine.

Un travail préliminaire consistait à injecter à 78 alligators et à 18 caïmans, 1 g de glucose par voie intrapéritonéale. Chez les plus petits animaux (70 g), la glycémie augmentait considérablement, chez les plus gros (8 kg) l'accroissement était imperceptible. Le seuil rénal était d'environ 800 mg %, mais même avec des taux sanguins de 1 200 mg %, la vitesse de perte était si lente que la perte effective du glucose était négligeable. La disparition du glucose injecté se produit très lentement (d'autant plus lentement que la température est plus basse), ce qui pourrait être dû à une très faible proportion d'insuline ou à une très faible sensibilité à l'insuline. En fait, des injections de diverses doses d'insuline ont prouvé que les alligators y étaient beaucoup moins sensibles que les Mammifères. Ces injections provoquaient un premier "choc" pendant une période d'hyperglycémie ; un deuxième "choc" par hypoglycémie (fatal si l'animal ne recevait pas des quantités massives de glucose) apparaissait beaucoup plus tard.

L'effet d'une injection intracardiaque d'adrénaline sur le glucose sanguin a également été étudié : il n'apparaît qu'au bout de 2 heures, avec la contraction des pupilles, rendant les animaux presque aveugles pendant plusieurs heures, et une augmentation considérable de la glycémie.

Des injections intramusculaires journalières de cortisone provoquaient une hyperglycémie modérée. Des injections d'ACTH dans les mêmes conditions restaient sans effet.

Les auteurs ont noté en conclusion que le métabolisme du glucose chez les Crocodiles était qualitativement semblable à celui observé chez les Mammifères supérieurs, mais très dissemblable du point de vue quantitatif, étant donnée la lenteur des réactions métaboliques. Cette lenteur présentait à la fois l'avantage de séparer des réactions qui apparaissaient simultanées chez un Mammifère, et le désavantage d'amener à conclure trop précocement sur certaines investigations : il aurait été possible ainsi de conclure par exemple que l'injection d'adrénaline restait sans effet chez l'Alligator.

HERNANDEZ et COULSON (1951) (74) ont trouvé une glycémie vraie moyenne de 192 mg % chez l'iguane noir, et de 155 mg% chez l'iguane commun.

ZAIN-UL-ABEDIN et QAZI (1965) (166), après avoir rappelé certains travaux rapportant des valeurs de la glycémie chez divers Reptiles, ont déterminé le sucre sanguin total (Méthode de FALES (53)) et le glucose (Méthode du glucostat) chez quelques espèces de Reptiles trouvés au Pakistan. Le sang des animaux était prélevé à jeun, sans anesthésie, par section des vaisseaux dans la région de la veine jugulaire. Les résultats des dosages (résumés dans le tableau N°10) montrent en particulier que les taux de sucre sanguin et de glucose sont les plus élevés chez les lézards (sauf Hemidactylus), que le glucose représente pratiquement le sucre sanguin chez les tortues, indiquant l'absence d'une fraction saccharide réalisant généralement la différence entre les deux valeurs, que ces valeurs sont enfin très basses chez les serpents.

LUCK et KEELER (103) dosaient les sucres réducteurs du sang des serpents à sonnettes, par les méthodes de BENEDICT (1928) (12) et de FOLIN (1928) (57). Ils ont trouvé entre 50 et 68 mg % pour Crotalus atrox, et 48 mg % pour Crotalus oregonus, donc des valeurs faibles.

DODEL et FEBVRE (1932) (47) ayant abordé l'analyse physicochimique du plasma de Vipère, obtenaient 0,1 g de glucose par litre. Reprenant ce dosage quelques années plus tard, Madame JOY et DASTUGUE (1943) (89) trouvaient 0,25 g/l.

HUTTON (1958) (81) a remarqué, chez les serpents qu'il étudiait, que la valeur du glucose dans un sang obtenu par décapitation était environ 30 % plus élevée que lorsque ce sang était recueilli par ponction cardiaque. Il pensait pouvoir attribuer ce fait à l'excitation induite chez les animaux, et notait que, pour les mocassins dont le sang était toujours recueilli par décapitation, la valeur du glucose pouvait être quelque peu abaissée. Les résultats apportés par l'auteur se retrouvent dans le tableau N°10.

Un bon travail de synthèse sur la glycémie des Amphibiens et des Reptiles est celui de MILLER (1961) (109). Il rappelle les travaux de MILLER et WURSTER (1956-1958) (112 - 113), qui avaient observé la nécessité d'un jeûne considérable des lézards Eumeces pour arriver à une diminution de la glycémie, d'autre part que cette glycémie augmentait facilement avec une nourriture normale, ou deux heures après ingestion de glucose. Ils rapportent aussi en particulier l'observation de RAPATZ et MUSACCHIA (1957) (128), qu'un jeûne de plusieurs semaines à 22°C de la tortue Chrysemys picta abaisse le sucre sanguin de 76 à 49 mg %, alors que ce même jeûne à 4°C provoque seulement une chute de 76 à 68 mg %. MILLER mentionne encore les recherches de COULSON et HERNANDEZ (1950) (29) (1953) (28) chez Alligator mississippiensis, et les études de RHANEY (1948) (131) sur le serpent Lampropeltus qui lui ont permis de découvrir que la vitesse d'absorption intestinale du glucose était inversement proportionnelle à la valeur initiale des sucres sanguins.

Tableau N° 10 - Valeurs précédemment publiées de la glycémie des Reptiles

ESPECE	Nombre de spécimens	Valeur moyenne mg %	Valeurs limites	AUTEURS
Alligator mississippiensis	-	99	21 - 205	COULSON & Coll. 1950 (29)
<u>LEZARDS</u>				
Ctenosaura acanthura	5	192	151 - 250	HERNANDEZ & COULSON (1951) (74)
Iguana iguana	9	155	132 - 195	- id -
Anolis carolinensis	-	-	100 - 230	DESSAUER 1953 ⁸ (35)
Calotes versicolor	13	216 (suc. red.)	165 - 255	ZAIN-UL-ABEDIN & QAZI 1965 (166)
Uromastix hardwickii	24	172 (suc. red.)	138 - 185	- id -
- id -	7	96	82 - 111	- id -
- id -	40	120	45 - 246	- id -
Varanus monitor	4	106.5	97 - 120	- id -
Hemidactylus brooki	-	54	44 - 66	- id -
Eumeces obsoletus	-	109	-	MILLER & WURSTER 1958 ⁸ (113)
<u>TORTUES</u>				
Chrysemys picta	-	76	-	RAPATZ & MUSACCHIA 1957 ⁸ (128)
Lissemys punctata	-	77.5 (suc. red.)	51 - 104	ZAIN-UL-ABEDIN & QAZI 1965 (166)
- id -	-	44 (suc. red.)	40 - 51	- id -
- id -	-	46	27 - 73	- id -
Kachuga smithi	-	74 (suc. red.)	-	- id -
- id -	-	78	-	- id -

Tableau N°10 - Valeurs précédemment publiées de la glycémie des Reptiles (suite)

ESPECE	Nombre de spécimens	Valeur moyenne mg %	Valeurs limites	AUTEURS
<u>SERPENTS</u>				
Bothrops jararaca	-	-	54 - 58	PRADO 1946 [*] (126)
Lampropeltus getulus	-	91	55 - 128	RHANEY 1948 [*] (131)
Crotalux atrox	-	-	50 - 68	LUCK & KEELER 1929 (103)
Crotalus oregonus	-	48	-	- id -
Vipera aspis	-	10	-	DODEL & FEBVRE 1932 (47)
- id -	-	25	-	Mme JOY & DASTUGUE 1943 (89)
Lampropeltus getulus	5	60.4	35.4 - 74.5	HUTTON 1958 (81)
Coluber constrictor	5	77	60.6 - 98.9	- id -
Natrix sipedon	5	48.9	15.7 - 96	- id -
Agkistrodon piscivorus	6	49.2	24.4 - 78.5	- id -
Naja naja	15	28.8	24 - 34	ZAIN-UL-ABEDIN & QAZI 1965 (166)
Pytas mucosus	9	60.7	54 - 68	- id -
Cerebrus rhynchops	9	18.6	15 - 24	- id -
Eryx jhoni	13	24.6	22 - 29	- id -
Echis carinatus	9	38.2	23 - 53	- id -
Vipera russelli	3	34.2	-	- id -
Psammophis leithi	1	20 (suc. red.)	-	- id -

NOTE : Les résultats de ce tableau notés d'un astérisque (*) sont ceux rapportés par MILLER (1961) 109).

CHAPITRE X

GAZ DU SANG - pH - RESERVE ALCALINE

COULSON et Coll. (29) ont effectué des déterminations du pH sanguin d'Alligator mississippiensis. Les valeurs trouvées ont montré de grandes variations d'un animal à un autre, et même chez un même animal à différents moments de la journée. Il a fallu un grand nombre de mesures (58), pour permettre de fixer le pH moyen du sang à 7,30 (Val. lim. : 6,87 - 7,66).

Les auteurs ont également mesuré la réserve alcaline, sur un appareil manométrique de Van Slyke : la moyenne de 18 déterminations était de 21,9 mEq/l (14,3 - 39,3).

HERNANDEZ et COULSON (74) ont mesuré la capacité en O_2 du sang des Iguanes, le CO_2 du sang et du plasma, et le pH du sang. Des différences marquées apparaissaient dans les valeurs trouvées, entre les deux espèces, Ctenosaura acanthura et Iguana iguana. Chez l'iguane noir, le CO_2 plasmatique très bas est en accord avec le pH du sang également très bas. Les auteurs ont constaté que des changements dans les valeurs du CO_2 et du pH sanguin, apparus après que les animaux aient pris une nourriture forcée, sont trop minimes pour être mesurables. De même, des injections d'histamine n'entraîneraient pas de modifications des valeurs.

	Capacité O ₂ Vol. %	pH sang	CO ₂ sang mM/l	CO ₂ plasma mM/l
Ctenosaura acanthura (Iguane noir)	8 (7,3 - 10,3)	7,22 (7,05 - 7,42)	12,9 (8,8 - 19,3)	14,5 (10,5 - 21,8)
Iguana iguana (Iguane commun)	9,5 (5,1 - 16,1)	7,48 (7,38 - 7,57)	20,8 (11,5 - 27)	24,4 (14,6 - 32,7)

Tableau N°11 : Gaz du sang - pH

oOo

CHAPITRE XI

CONSTITUANTS MINÉRAUX DU PLASMA

COULSON et Coll. (29), ont dosé les chlorures du sang total et du plasma d'Alligator mississippiensis par la méthode de SCHALES (135), et le sodium, le potassium et le magnésium par photométrie de flamme. Leurs résultats sont rapportés dans le tableau N°12. HERNANDEZ et COULSON (74) ont constaté des différences marquées dans les valeurs du chlore entre Ctenosaura acanthura et Iguana iguana, et des concentrations en phosphore plasmatique pour ces espèces beaucoup plus élevées que celles de l'Alligator.

STENROOS et BOWMAN (143) ont dosé par photométrie de flamme, le sodium et le potassium sériques des tortues : Chrysemys picta belli, Pseudemys scripta elegans, Emydoidea blandingi et Clemys insculpta. En pourcentage, le potassium variait plus que le sodium, et les valeurs moyennes se situaient respectivement vers 3,5 et 146 mEq/l. Ces valeurs étaient comparées à celles rapportées par HUTTON et GOODNIGHT (1957) (84) pour la tortue Pseudemys, et par SMITH (1929) (139).

LUCK et KEELER (103) ont déterminé les chlorures plasmatiques de Crotalus oregonus et de Crotalus atrox par la méthode de SHORT et GELLIS (1927) (137), et le phosphore inorganique par la méthode de FISKE et SUBARROW (1925) (56). Les résultats de leurs dosages se retrouvent dans le tableau N°12 ; les auteurs renonçaient à expliquer les valeurs élevées trouvées pour ces constituants.

DODEL et FEBVRE en 1932 (47), cherchant à réaliser un milieu de survie pour les organes isolés de la Vipère, et pensant que la composition de ce milieu devait se rapprocher de celle du sérum, ont analysé en particulier le

sodium, le potassium et le calcium sériques de Vipera aspis. Sur le sang de cette même espèce, Madame JOY et DASTUGUE dosaient en 1943 (89) le chlore plasmatique et le chlore sanguin.

DESSAUER, FOX et GILBERT (1956) (40) ont étudié les variations des valeurs du calcium et du magnésium sériques de 10 espèces de serpents Natrix et 14 espèces de serpents Thamnophis, pendant le cycle ovarien. Le sang était recueilli par ponction cardiaque chez les animaux à jeun et anesthésiés. L'ensemble calcium + magnésium était déterminé directement sur un échantillon de plasma, le calcium était dosé dans un précipité oxalaté du plasma, et le magnésium était calculé par différence entre les deux valeurs. Les auteurs ont constaté une augmentation marquée des concentrations en calcium et magnésium sériques chez les femelles adultes pendant l'oestrus. Mais, après l'ovulation, ces valeurs reviennent très rapidement à des concentrations caractéristiques d'animaux en état d'anoestrus.

HUTTON (1958) (81) rapporte les concentrations en sodium, phosphore inorganique, chlore, calcium et magnésium du plasma des serpents terrestres et aquatiques. Ces valeurs sont notées dans le tableau N°12, et confirment l'absence de différence notable malgré l'opposition des modes de vie.

Enfin, DIETZ et BRODIE (1969) (45), ont recherché les concentrations sériques en sodium, potassium et chlore du serpent Pituophis melanoleucus catenifer, à différents stades de son développement. Le sodium et le potassium étaient analysés par photométrie de flamme, le chlore avec un chloruremètre. Les plus basses concentrations en sodium et chlore étaient notées chez le serpent à l'état d'embryon, les concentrations intermédiaires chez le nouveau-né et les plus hautes chez l'adulte ; il y avait donc augmentation proportionnelle au développement. La valeur du potassium restait sensiblement constante à 6 mM/l, sauf pour les embryons pris à 14°C, mais l'élévation observée pouvait être due précisément à cette température relativement basse. La somme des ions sodium, chlore et potassium représentait pratiquement la totalité des ions en solution, sauf chez le jeune embryon où elle ne comptait que pour 86 %, le reste n'étant pas identifié. Les auteurs comparaient leurs résultats à ceux de LUCK et KEELER (1929) (103) et de HUTTON (1958) (81) en particulier, et apportaient en conclusion que la composition sanguine du serpent Pituophis subissait des changements significatifs au cours du développement.

CONSTITUANT	ESPECE	Nombre de déterminations	Valeurs moyennes	Valeurs limites	AUTEURS
CHLORE SANGUIN	Alligator mississip.	18	96 mEq/l	80 - 107	COULSON & Coll. (29)
	Ctenosaura acant.	5	107	102 - 111	HERNANDEZ-COULSON (74)
	Iguana iguana	9	94	88 - 102	- id -
	Vipera aspis	-	97	-	Mme JOY & DASTUGUE (89)
CHLORE PLASMATIQUE	Alligator mississip.	29	107	83 - 128	COULSON & Coll. (29)
	Ctenosaura acant.	5	133	128 - 137	HERNANDEZ-COULSON (74)
	Iguana iguana	9	118	110 - 124	- id -
	Crotalus atrox	-	225	-	LÜCK & KEELER (103)
	Vipera aspis	-	140	-	Mme JOY & DASTUGUE (89)
	Lampropeltus get.	5	79,5	59 - 102	HUTTON (1958) (81)
	Coluber constrictor	4	71,4	64 - 78	- id -
	Natrix sipedon	3	64,2	59 - 71,5	- id -
	Agkistrodon pisc.	5	88,5	81 - 102	- id -
	Pituophis adulte	3	141	-	DIETZ-BRODIE (45)
	- nouveau-né 25°	14	110	-	- id -
	- embryon 25°	2	-	110 - 111	- id -
	- nouveau-né 14°	10	124	-	- id -
	- embryon 14°	2	-	82 - 89	- id -
POTASSIUM SANGUIN	Alligator mississip.	4	32,8 mEq/l	23 - 45	COULSON & Coll. (29)
POTASSIUM PLASMATIQUE	- id -	10	4,2	2,6 - 6,4	- id -
	Ctenosaura acant.	5	2,9	2,4 - 3,2	HERNANDEZ-COULSON (74)
	Iguana iguana	9	3,5	2,9 - 4,3	- id -
	Chrysemys picta belli	7	3,1	-	STENROOS-BOWMAN (143)
	Clemys insculpta	3	3,4	-	- id -
	Pseudemys scripta el.	2	4,25	-	- id -
	Emydoidea blandingi	4	3,65	-	- id -
	Vipera aspis	-	7,6	-	DODEL & FEBVRE (47)
	Pituophis adulte	3	6	-	DIETZ & BRODIE (45)
	- nouveau-né 25°	12	6	-	- id -
	- embryon 25°	1	7	-	- id -
	- nouveau-né 14°	10	5	-	- id -
	- embryon 14°	2	-	12 - 16	- id -

CONSTITUANT	ESPECE	Nombre de déterminations	Valeurs moyennes	Valeurs limites	AUTEURS
SODIUM PLASMATIQUE	Alligator mississip.	29	154 mEq/l	146 - 162	COULSON & Coll. (29)
	Ctenosaura acant.	5	159	158 - 163	HERNANDEZ-COULSON (74)
	Iguana iguana	9	157	142 - 165	- id -
	Chrysemys picta belli	7	146,5	-	STENROOS & BOWMAN (143)
	Clemys insculpta	3	147	-	- id -
	Pseudemys scripta el.	2	141,5	-	- id -
	Emys blandingi	4	146,5	-	- id -
	Vipera aspis	-	169	-	DODEL & FEBVRE (47)
	Lampropeltus getulus	5	124	112 - 135	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	4	141	131 - 150	- id -
	Natrix sipedon	3	116	108 - 132	- id -
	Agkistrodon pisciv.	6	141	125 - 157	- id -
	Pituophis adulte	3	180	-	DIETZ & BRODIE (45)
	- nouveau-né 25°	14	147	-	- id -
	- embryon 25°	2	-	143 - 152	- id -
	- nouveau-né 14°	10	164	-	- id -
	- embryon 14°	2	-	132 - 145	- id -
CALCIUM SERIQUE	Alligator mississip.	12	5,1 mEq/l	4,7 - 5,5	COULSON & Coll. (29)
	Ctenosaura acant.	5	5,9	4,6 - 6,9	HERNANDEZ-COULSON (74)
	Iguana iguana	9	5,3	4,8 - 5,8	- id -
	Vipera aspis	-	9,5	-	DODEL & FEBVRE (47)
	Thamnophis :				
	Femelle adulte anoestrus	33	3,16 mM/l	1,7 - 4,4	DESSAUER & Coll. (40)
	Femelle adulte oestrus	19	12,3	4 - 40	- id -
	Natrix :				
	Femelle adulte anoestrus	21	3,44	2,7 - 4,2	- id -
	Femelle adulte oestrus	13	8,35	4 - 26	- id -
	Lampropeltus getulus	5	4,9 mEq/l	3,9 - 6	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	4	6,1	3,8 - 8,6	- id -
	Natrix sipedon	3	4,6	4 - 5,9	- id -
	Agkistrodon pisciv.	5	6,7	4,5 - 10	- id -

CONSTITUANT	ESPECE	Nombre de déterminations	Valeurs moyennes	Valeurs limites	AUTEURS
PHOSPHORE INORGANIQUE	Alligator mississippi	1	3,39 mg Z	1,86 - 3,89	COULSON & COLL (29)
	Ctenosaura acant.	5	7	5,5 - 10,3	HERNANDEZ-COULSON (74)
	Iguana iguana	9	6,1	4,9 - 7,5	- id -
	Crotalus atrox	-	5,2	-	LUCK & KEELER (103)
	Crotalus oregonus	-	-	10 - 10,7	- id -
	Lampropeltus getulus	5	7,1 mEq/l	3,9 - 16,2	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	4	11,6	7,9 - 17,5	- id -
	Natrix sipedon	3	5,1	4,7 - 5,8	- id -
	Agkistrodon pisciv.	6	5,1	-	- id -
	Ctenosaura acant.	5	2,3 mg Z	2,1 - 2,6	HERNANDEZ-COULSON (74)
MAGNESIUM FLASMAIQUE	Iguana iguana	9	1,9	1,65 - 2,6	- id -
	Tamnophis :				
	Femelle adulte anoestrus	33	1,64 mM/l	0,8 - 3,6	DESSAUER & Coll. (40)
	Femelle adulte oestrus	19	4,43	- 10,9	- id -
	Natrix :				
	Femelle adulte anoestrus	19	1,49	0,8 - 3,1	- id -
	Femelle adulte oestrus	13	2,2	0,8 - 4,4	- id -
	Lampropeltus getulus	1	1,77 mEq/l	-	HUTTON 1958 (81)
	Coluber constrictor	1	2,22	-	- id -
	Natrix sipedon	1	1,62	-	- id -
	Agkistrodon pisciv.	4	2,23	2,1 - 2,4	- id -

CHAPITRE XII

APERCU BIOCHIMIQUE DU PHENOMENE DE L'HIBERNATION

Après avoir examiné point par point les différents aspects de la composition du sang des Reptiles, et tenté de rassembler les articles précédemment publiés sur ce sujet, nous signalerons enfin un très gros travail de synthèse rapporté par DESSAUER, FOX et SUTTON, en 1961 (42).

Ces auteurs nous fournissent, sous forme de tableaux, avec les références correspondantes, les valeurs des électrolytes du plasma de 46 Reptiles différents, appartenant aux Crocodiliens, Lézards, Tortues et Serpents. Nous y retrouvons également de très nombreux résultats concernant le volume, l'hématocrite, le nombre d'hématies, l'hémoglobine, les protéines, le pH, la teneur en CO_2 , le glucose..., du sang de ces Reptiles. Il va de soi que parmi toutes ces valeurs, certaines d'entre elles se retrouvent également dans les tableaux de résultats résumant nos recherches bibliographiques personnelles.

Puisque tous les résultats que nous venons de donner ne représentent que des valeurs moyennes, il nous a paru opportun d'achever cette étude bibliographique en mettant l'accent sur les variations parfois très importantes qu'elles sont amenées à subir ; nous pensons tout particulièrement au phénomène de l'hibernation chez les Reptiles et c'est pourquoi notre chapitre de conclusion voudra mettre en évidence les variations entraînées par cet état physiologique. Les travaux traitant de ce sujet sont d'ailleurs relativement nombreux.

DESSAUER (1953) (35), a étudié les variations métaboliques apparaissant tout au long de l'année chez le lézard Anolis carolinensis, en comparant le comportement de cet animal à l'état sauvage avec celui du même animal pris dans des conditions expérimentales de laboratoire. Les lézards captifs

étaient maintenus à une température constante de 28°C, correspondant à une température d'été, et divisés en deux groupes, l'un recevant quotidiennement 14 heures de lumière, l'autre 10 heures seulement. Ces animaux étaient nourris tous les 4 jours de larves d'insectes et trouvaient leur eau sous forme de gouttes sur des feuilles de fougère et de lierre. Ils étaient sacrifiés en état de jeûne et 3 groupes de déterminations étaient effectués :

- Dosage du glucose sanguin et études hépatiques ;
- Estimation des lipides totaux , extractibles à l'éther ;
- Déterminations respiratoires.

La variation du glucose sanguin, c'est-à-dire passage d'une valeur faible en été et automne à une valeur maximum en hiver et au printemps, est sensiblement la même quel que soit le groupe d'animaux envisagé. Cette variation rappelle celle notée chez l'Alligator par HERNANDEZ et COULSON (1952) (75). Le pourcentage de glycogène hépatique, ainsi d'ailleurs que celui de glycogène extra-hépatique, exprimés par rapport au poids corporel, augmentent avec le poids du foie chez tous les lézards Anolis en automne. Il diminue par contre au printemps. DESSAUER a cependant remarqué que les foies des animaux captifs étaient légèrement plus lourds, et contenaient plus de glycogène.

Les substances extractibles à l'éther, des corps d'animaux séchés et broyés, atteignent également une valeur maximale en automne et cette valeur diminue graduellement jusqu'à devenir la plus faible à la fin du printemps ; ceci aussi bien pour les animaux récemment capturés que pour les animaux de contrôle.

Les déterminations respiratoires, à savoir l'utilisation d'O₂ et production de CO₂, étaient faites dans une chambre close de respiration munie d'un thermomètre et d'un manomètre, et contenant une solution de Ba(OH)₂. L'O₂ utilisé, calculé à partir de la température et des changements manométriques, de même que la production de CO₂, calculée par titrage acidimétrique (HCl) du Ba(OH)₂, ne permettaient pas de noter des différences saisonnières marquées, c'est-à-dire que le pourcentage de changement observé ne dépassait pas 15 % par rapport à la moyenne.

HAGGAG, RAHEEM et KHALIL (70) se sont intéressés tout particulièrement au phénomène de l'hibernation chez les Reptiles, et dans un premier temps de leur recherche, ils ont noté les changements apparus dans les électrolytes du sang. Ils ont cherché à comprendre la régulation du métabolisme des animaux pendant une telle période, en rappelant que certains auteurs relient l'hibernation à des facteurs extérieurs comme la température, prenant l'exemple de la chauve-souris. Mais le froid n'est ni le principal ni le seul facteur responsable de l'endormissement. D'autres expérimentateurs (PENGALLY et FISHER) (120), rendent des facteurs internes responsables du phénomène, et l'exemple est donné de l'écureuil, soumis expérimentalement à divers stimuli extérieurs, qui hiberne malgré tout en même temps que le même animal dans des conditions naturelles. De nombreux travaux sur l'hématologie de divers animaux hibernants avaient déjà été entrepris : FERDMANN et FEINSCHMIDT (1932) (54) ont étudié le calcium et le potassium du sang de marmottes, en activité et en hibernation; SUOMALAINEN et SARJAS (1938 - 1951) (145 - 146); RIEDESEL et FOLK (1956) (133); PORR et Coll. (1960) (124) avaient entrepris leurs recherches sur les hérissons et les chauves-souris. Chez les Reptiles, peu de travaux avaient encore été publiés traitant de leur hibernation, hormis ceux de CARMICHAEL et PETCHER (1945) (22) et de HUTTON et GOODNIGHT (1957) (84), et sur lesquels nous aurons l'occasion de revenir ultérieurement.

HAGGAG et ses collaborateurs ont employé pour leur étude le lézard du désert Varanus griseus dont l'hibernation commence en octobre et dure jusqu'à la mi-avril. Après coagulation du sang, prélevé dans l'aorte, et centrifugation, les dosages du sodium et du potassium étaient effectués, sur le sérum recueilli, par photométrie de flamme. Les déterminations du calcium et du magnésium étaient faites suivant des techniques complexométriques (SOBEL et HANOCK, 1951) (141). Étaient encore dosés le phosphore inorganique par la méthode de FISKE et SUBBAROW (1925) (56), les chlorures (SHALES et SHALES) (135) et les bicarbonates par la méthode de VAN SLYKE (1922) (155).

Des échantillons de sang étaient analysés en été, au moment de l'activité maximale, et en hiver, en pleine hibernation. Les résultats moyens peuvent être comparés dans le tableau récapitulatif suivant N°13 :

Electrolytes	Valeurs en mg/100 ml de sérum			Variations en % des valeurs d'été
	Eté	Hiver	Variation	
Sodium	416.50	302.38	- 114.12	- 27.39
Potassium	13.56	16.93	+ 3.37	+ 24.85
Calcium	12.88	14.42	+ 1.54	+ 11.95
Magnésium	2.74	4.25	+ 1.51	+ 55.11
Chlorures	527.34	478.75	- 48.59	- 9.21
Phosphore inorgan.	4.33	4.95	+ 0.62	+ 14.32
Bicarbonates	191.23	109.19	- 82.04	- 42.90
Rapport $\frac{\text{Potassium}}{\text{Calcium}}$	1.05	1.17		
Rapport $\frac{\text{Calcium}}{\text{Magnésium}}$	4.70	3.39		

Tableau N°13

HAGGAG, RAHEEM et KHALIL ont donc noté que pour le lézard Varanus greseus en hibernation, le taux de sodium sérique diminue dans les mêmes proportions qu'une augmentation du potassium. D'autre part, ils ont observé une augmentation du calcium sérique pendant cette période, ce qui entraîne que le

rapport $\frac{\text{Potassium}}{\text{Calcium}}$ reste sensiblement constant. Ceci était en désaccord avec

les conclusions de FERDMANN et FEINSCHMIDT (54) pour les marmottes, mais était en accord avec celles de PORA et Coll. (124) pour les chauves-souris. Le magnésium présentait une augmentation marquée pendant l'hiver et une telle observation avait été faite précédemment par HUTTON et GOODNIGHT (84) quant au sang des tortues Terrapene et Pseudemys. Enfin, on pouvait noter une augmentation du phosphore inorganique pendant l'hibernation tandis que les chlorures et les bicarbonates diminuaient.

HAGGAG, RAHEEM et KHALIL ont consacré la deuxième partie de leur étude de l'hibernation chez le lézard Varanus greseus, aux variations apparues dans la glycémie, le taux d'hémoglobine, le nombre d'hématies et la valeur de l'azote protéique et non-protéique (71). Le dosage du glucose sanguin, effectué par la méthode de KEMP et KITIS (1954) (91), mettait en évidence une chute très importante pendant l'hibernation, ce qui semblait offrir une indication importante du stade d'activité de l'animal. Cette hypoglycémie en état d'hibernation avait déjà été enregistrée, aussi bien chez les Mammifères que chez les Amphibiens ou que chez d'autres Reptiles : alligators (HOPPING (78); COULSON et HERNANDEZ (28)); serpents (PRADO (126) ; lézards (KHALIL et YANNI (95))).

HAGGAG et Coll. faisaient appel à la dépendance existant entre le système nerveux et le sucre sanguin (HIMWICH (76)), pour supposer que la chute observée pouvait être précisément responsable de la diminution d'activité du système nerveux pendant la période envisagée. L'hémoglobine était estimée en utilisant l'haémomètre de Sahli et une diminution importante était également notée en hiver, ce qui paraissait en accord avec une activité et des demandes en oxygène beaucoup plus basses. Cette observation, rapportée depuis 1924 par BARCROFT (7), était cependant contraire à celles de CARMICHAEL et PETCHER (122) chez les serpents et de HUTTON et GOODNIGHT (1957) (84) chez les tortues d'eau douce et de mer, qui rapportent une augmentation dans les mêmes conditions.

L'estimation de l'azote protéique et non-protéique était menée selon la méthode de SOBEL et Coll. (1944) (142). Une légère diminution de l'azote des protéines en hiver semblait être expliquée par la faim des animaux ; par contre, la valeur de l'azote non-protéique est plus que doublée en hiver et ceci serait attribué au manque d'excrétion et donc à l'accumulation des métabolites azotés durant l'hibernation.

Un tableau de résultats montre les changements existant dans ces divers constituants du sang :

Constituants	Eté	Hiver	Variation	Variation en % de la valeur d'été
Glucose en mg/100 ml de sang	95.29	35.88	- 54.41	- 62.35
Hémoglobine en g/100 ml de sang	10.64	6.88	- 3.76	- 35.33
N protéique en g/100 ml de sérum	6.68	6.20	- 0.48	- 7.19
N non-protéique en mg/100 ml de sérum	74.18	156.69	+ 85.51	+ 115.27
Globules rouges/mm ³	1.229.385	855.250	-444.135	- 34.18

Tableau n°14

ZAIN-UL-ABEDIN et KATORSKI (1967) (165), ont étudié certains constituants du sang du lézard commun Uromastix hardwickii, durant l'hibernation et l'activité ; il s'agissait en particulier du glucose, des lipides, des protéines plasmatiques et de l'azote non-protéique. Les lézards en période active étaient nourris avec de l'herbe. Leur sang était prélevé au niveau des veines jugulaires sans anesthésie. Le taux moyen de glucose sanguin, environ 120 mg %, restait inchangé, bien que les variations autour de cette moyenne aient été beaucoup plus importantes en hibernation qu'en période d'activité. Le fait que ce lézard soit herbivore et que son coecum apparaisse comme un lieu de réserves de nourriture, pouvait expliquer que cette valeur du glucose soit maintenue. BINYON et TWIGG (16) ont rapporté également un taux de glucose sanguin inchangé pendant l'hiver chez le serpent Natrix natrix. La teneur en lipides, représentés par les acides gras estérifiés d'une part, non-estérifiés d'autre part, se trouvait plus que doublée pendant l'hibernation. ZAIN-UL-ABEDIN et KATORSKI ont prouvé l'absence de relation avec la libération de

bourrelets graisseux apparaissant chez Uromastix. Ils suggéraient par contre que le foie, dont le contenu en lipides est deux fois plus important que celui observé en activité, pouvait être responsable de la synthèse lipidique. Quant à l'azote non-protéique, ces auteurs ont noté avec intérêt que la valeur dans un filtrat préparé avec l'hydroxyde de zinc est environ la moitié de celle trouvée dans un filtrat à l'acide trichloracétique ; d'autre part, cette dernière diminue de façon significative en hibernation alors qu'il n'y a pratiquement pas de changement quand il s'agit du filtrat à l'hydroxyde de zinc. Enfin, les protéines plasmatiques, déterminées par la méthode du biuret, restaient inaltérées à la valeur de 5 g % dans les deux états physiologiques.

HUTTON et GOODNIGHT (1957) (84) ont publié une étude très complète des variations de la chimie du sang de 2 tortues, prises dans les 2 états d'activité et d'hibernation :

- Terrapene carolina carolina, tortue terrestre commune
- Pseudemys scripta elegans, tortue d'eau

Ils ont fait tout d'abord un rappel des précédents articles traitant de la composition du sang des Chéloniens, en remarquant leur rareté. Notons cependant l'étude faite par SMITH en 1929 (139) des composants inorganiques du sang de 5 espèces de tortues d'eau douce :

- Chrysemys marginata belli
- Graptemys geographica
- Emys blandingii
- Chelydra serpentina
- Pseudemys elegans

et de deux espèces marines.

Il faut signaler par la suite les travaux de KERR et DAOUD (1935) (92), RAPOPORT et GUEST (1941) (129), et PLATNER (1949) (122), traitant des valeurs du phosphore inorganique et du magnésium sérique chez les tortues.

Toutes les tortues utilisées par HUTTON et GOODNIGHT étaient nourries une fois par semaine de viande de cheval et de laitue ; les prélèvements

de sang étaient pratiqués par ponction cardiaque et les spécimens en hibernation étaient maintenus dans la glace pendant cette opération. Ces auteurs ont étudié divers composants organiques, pour la plupart desquels les déterminations quantitatives étaient effectuées par colorimétrie : glucose, urée, acide urique, créatinine. De nombreux composants inorganiques ont également été évalués : il s'agit des ions Cl^- , Mg^{++} , PO_4^{---} , SO_4^{--} , Na^+ , K^+ , Ca^{++} . Les calculs étaient accompagnés du test de Student dans le but de préciser la signification des résultats.

Le travail de HUTTON et GOODNIGHT, en une première étape, consiste en une comparaison des deux espèces, Terrapene et Pseudemys, en activité. Celle-ci révèle en résumé que les taux sanguins de glucose et d'azote protéique sont identiques; qu'il y a peu ou pas d'urée ; que la tortue Terrapene possède des concentrations en créatinine légèrement plus élevées et des taux d'azote non-protéique et d'acide urique beaucoup plus forts de façon significative. Enfin, les valeurs des Cl^- , SO_4^{--} et Mg^{++} étaient plus hautes de façon significative pour l'espèce terrestre, et des concentrations en calcium sérique surprenantes par leur faiblesse étaient notées.

La deuxième partie, la plus importante, de l'étude, comporte une comparaison établie entre les espèces actives et en hibernation. Cette hibernation serait plus justement appelée inactivité, car les tortues sortent de leur torpeur hivernale dès qu'une journée devient plus chaude. Les changements les plus nets entre les deux états ont été notés dans les concentrations en glucose et en acide urique, qui augmentent pendant l'hibernation. Le glycogène stocké serait donc converti en glucose par le foie, bien que l'activité de celui-ci diminue également ; les tissus ne l'utilisant pas, ce glucose s'accumule dans le sang et serait une source d'énergie pour le réveil. L'acide urique, d'autre part, dont la valeur se trouve être 4 à 5 fois supérieure, prouve l'accumulation de déchets azotés pendant l'hibernation. L'augmentation de l'urée et la diminution des protéines sériques n'étaient pas significatives. Les déterminations des ions inorganiques, bien qu'insuffisantes par la quantité, montraient des taux relativement constants de chlore, potassium et calcium ; il en est de même chez les Vertébrés supérieurs. Par contre, il y a une légère baisse de la valeur du sodium sérique et une hausse du magnésium, cette dernière correspondant à une diminution dans la peau et les muscles de la tortue (Travaux de PLATNER, 1949 (122)). Notons enfin l'augmentation des SO_4^{--} sériques, qui serait liée au métabolisme des protéines, celles-ci libérant des atomes de soufre subissant une oxydation. HUTTON et

GOODNIGHT concluent en retenant principalement de leur étude, que tous les changements observés dans les différents constituants du sang sont minimes par rapport aux changements dans l'activité et l'environnement des animaux. Leurs résultats chiffrés sont résumés dans le tableau suivant N°15 ; nous y avons retenu la moyenne arithmétique, exprimée en mg % :

Constituant	<u>Terrapene</u>		<u>Pseudemys</u>	
	Activité	Hibernation	Activité	Hibernation
Glucose	36.2	110.3	22.5	89.3
Créatinine	0.92	0.79	0.34	0.35
N sérique total	577	748	497	403
N protéique	520	650	465	381
N non-protéique	57	97.5	26.4	20.6
Acide urique	1.75	5.66	0.78	3.98
NH ₃	0.66	0.91	0.27	0.55
Urée	1.05	2.05	-	-
Sulfates	1.23	2.28	0.34	1.09
Phosphore	2.70	1.75	3.48	1.39
Magnésium	3.78	4.98	2.57	5.16
Chlorures	97.6	122.3	80.4	81.3
Sodium	124.8	82.6	119.5	87.8
Potassium	4.73	3.42	4.24	4.30
Calcium	0.70	Bas	0.80	Bas

Tableau n°15

GILLES-BAILLIEN (63), lors d'une première étude de l'hibernation de la tortue grecque, avait observé les variations de la composition sanguine dès le mois d'août, c'est-à-dire avant même l'apparition des signes de torpeur.

Il avait donc recherché l'influence des facteurs extérieurs que sont la lumière et la température sur l'enfouissement et l'engourdissement de l'animal. L'analyse faite dans des conditions expérimentales très diverses révélait en conclusion qu'un abaissement de la température déterminait l'enfouissement, et une diminution progressive de la photopériode, l'engourdissement. GILLES-BAILLIEN note l'importance d'une modification brusque de ces deux facteurs pendant la période active, qui entraîne alors le dépérissement et la mort de la tortue. Un article de ce même auteur, en 1969 (64), traite des variations saisonnières de la composition sanguine de la tortue Testudo Hermannii Hermannii Gmelin. Les résultats donnés concernent en particulier les concentrations en sodium, potassium, chlore et urée, ainsi que la composition en acides aminés du sang. Les échantillons de sang étaient prélevés directement au niveau de l'aorte. Le problème de l'économie d'eau étant une nouvelle fois posé pour la tortue entrant en hibernation, l'accent était mis dans cette étude sur les concentrations en urée, apparaissant comme effecteur osmotique majeur, et en substances azotées. L'auteur a constaté en général une augmentation du taux d'urée simultanée à une diminution de celui des acides aminés, et deux exceptions importantes :

- Avant le réveil, augmentation brusque de l'urée ainsi que du pool d'acides aminés ;
- Au réveil, chute rapide de la concentration en urée.

GILLES-BAILLIEN considère que la diminution de concentration en acides aminés est insuffisante pour expliquer l'augmentation de l'urée sanguine, et il implique une dégradation protéinique, telle qu'elle a été déjà notée par HAGGAG et ses Coll. (1966) (71) chez le lézard Varanus griseus. De plus, cette augmentation pourrait être interprétée comme une accumulation de déchets azotés, dont l'élimination cesse pendant l'hibernation. L'augmentation brusque de l'urée avant l'éveil serait provoquée par un réveil métabolique précédant l'éveil physique. Enfin, l'augmentation des teneurs en sodium et chlore chez la tortue hibernante serait expliquée, soit par une hémococoncentration secondaire à une déshydratation, soit par une diminution du volume du sang.

CARMICHAEL et PETCHER (22) ayant constaté que les recherches sur la chimie du sang des serpents pendant l'hibernation étaient peu nombreuses, ont étudié celle de Crotalus horridus pendant le jeûne hivernal, du début de l'automne à mars, et de nouveau après plusieurs semaines d'une nourriture faite de petits rongeurs et d'oiseaux. Le sang était prélevé par ponction cardiaque.

Les résultats, que nous rapportons dans le tableau N°16, montrent en particulier un très fort accroissement du taux d'acide urique pendant la période normale, dû à un métabolisme élevé et donc à une forte perte azotée après ingestion de nourriture. D'autre part, les concentrations en phosphore inorganique, cholestérol sérique, calcium et magnésium, augmentaient toutes plus ou moins pendant la période d'activité. La teneur en hémoglobine était légèrement plus élevée chez l'animal nourri, mais la concentration des globules en hémoglobine était beaucoup plus importante du fait de leur diminution de volume. De même, il y avait diminution du nombre des hématies, probablement influencée d'ailleurs par le prélèvement de sang.

Les auteurs ont tenté de dresser une comparaison entre leurs résultats et ceux de LUCK et KEELER (103), en remarquant notamment que les valeurs de la créatine et des chlorures dans le sang de Crotalus horridus étaient beaucoup plus faibles que celles rapportées pour Crotalus atrox et Crotalus oregonus. Par contre, les valeurs de l'urée étaient plus élevées.

Constituant	<u>Crotalus horridus</u>	
	En hibernation	En activité
Azote non-protéique	33,71 mg %	35,99 mg %
Urée	5,47 -	11,36 -
Azote des acides aminés	22,86 -	22,18 -
Acide urique	1,32 -	2,99 -
Créatine	2,81 -	2,88 -
Créatinine	1,13 -	1,37 -
Chlorures	624 -	650 -
Phosphore inorganique	4,06 -	10,61 -
Cholestérol	145,76 -	149,38 -
Sucres réducteurs	60,20 -	62,62 -
Calcium	8,17 -	24,80 -
Magnésium	1,95 -	2,4 -
Nombre d'hématies	1 520 000	1 140 000
Hémoglobine	57	66,2

Tableau N°16

S'inspirant des travaux de LUCK et KEELER (103) d'une part, de CAR-MICHAEL et PETCHER (22) d'autre part, IZARD, DETRAIT et BOQUET ont observé les variations saisonnières de la composition du sang de Vipera aspis (1961) (85). Leurs résultats nous intéresseront tout particulièrement puisque nous serons amenés à les comparer avec ceux que nous obtiendrons lors de notre propre étude expérimentale. Ces auteurs ont travaillé pendant plusieurs années sur des vipères dont le sang était obtenu par décapitation, et recueilli soit tel quel, soit sur anticoagulant. Ils ont conclu que, par rapport à l'Homme, le sang de Vipera aspis est riche en chlorures, en calcium, en lipides et en cholestérol, mais pauvre en sucres réducteurs. De plus, de petites quantités d'urée y étaient toujours décelées.

La lipémie était à son maximum au printemps et en été, puis diminuait en automne avant l'hibernation. L'influence des saisons était insignifiante sur les concentrations du sodium et du potassium dans le sang de Vipère, mais modifiait par contre celles du calcium et du magnésium. C'est ainsi que la teneur en calcium du sang de Vipera aspis est la plus élevée au printemps.

Les auteurs rapportent encore que le sang de Vipère est plus nocif au mois de juin qu'au mois d'octobre, quand injecté à des souris ; mais que par contre l'action anti-toxique du sérum de Vipera aspis sur son propre venin est plus grand au mois de septembre qu'au mois de mars.

De tous les résultats rapportés par IZARD et ses Coll., nous avons tenté de retenir les plus significatifs, et les avons classés dans le tableau N°17 en distinguant ceux du début de l'activité (printemps) d'une part, et ceux du début de l'hibernation d'autre part (septembre-octobre).

Constituant	Printemps	Sept. - Oct.
Chlore g/l	4,56 - 4,71	-
Sodium g/l	3,50	3,65
Potassium g/l	0,215	0,265
Calcium g/l	1,25	0,132
Phosphore inorganique g/l	-	0,110
Magnésium g/l	0,333	0,049
Sucres réducteurs g/l	0,52	0,50
Lipides totaux g/l	11,2	9,6
Cholestérol total g/l	3,8	2,83
Urée g/l	0,1	0,1
Acide urique g/l	0,025	0,033

Tableau N° 17

oOo

D E U X I E M E P A R T I E

-- RECHERCHES EXPERIMENTALES --

CHAPITRE I

CONSERVATION & UTILISATION DES ANIMAUX

EXPRESSION DES RESULTATS

Les vipères de la race Vipera aspis que nous avons utilisées pour notre expérimentation nous étaient fournies gracieusement par le Docteur LAMY de l'Institut Pasteur, après avoir été dévenimées. Elles étaient conservées en cage de verre, elle-même fermée dans une cage grillagée de sécurité, à la chambre froide à $+ 4^{\circ}\text{C}$. Les vipères en captivité ne s'alimentaient pas et supportaient plusieurs semaines de cette hibernation artificielle. Nous avons retenu pour l'expérimentation les animaux qui, ramenés à la température du laboratoire, manifestaient de l'activité, pour ne pas dire de l'agressivité. Extraits de la cage de verre avec une paire de pinces, ils étaient sacrifiés par décapitation, à l'aide d'une simple paire de ciseaux. Le corps de la vipère était alors maintenu verticalement au-dessus d'un petit bēcher (avec ou sans anti-coagulant selon le dosage projeté) pour recueillir le sang, en évitant d'effectuer une trop forte pression qui aurait pu entraîner le mélange du sang et du suc tissulaire. Les hématies et le plasma étaient ensuite séparés par centrifugation à 3 000 t/mn pendant 10 minutes

Notons le mode particulier de prélèvement pour les dosages effectués en micro-méthodes : le sang était recueilli en pipette Pasteur directement à la section de la tête, puis transféré dans des micro-tubes. De même pour les mesures de l'hématocrite et du pH, le prélèvement se faisait directement en tubes capillaires, et correspondait pratiquement à une ponction intra-artérielle.

Après le recueil du sang, les vipères étaient disséquées dans le but de connaître le sexe de chaque animal, la seule différenciation indiscutable se faisant au niveau des testicules et des ovaires.

La masse considérable des résultats que nous avons obtenus, représentant 2 073 valeurs pour l'ensemble des différents dosages, et se rapportant à plus de 200 animaux, a été exploitée statistiquement, grâce à l'étroite collaboration de Monsieur Claude MOTTA et à la grande obligeance de Monsieur HENNEQUIN qui nous a donné la possibilité d'utiliser l'ordinateur I.B.M. 7 044 de la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand. Le programme écrit en langage FORTRAN et l'organigramme ayant servi à établir ce programme sont donnés en appendice de ce travail. Nous y avons joint la liste des abréviations employées, avec leur signification.

Nous avons tout d'abord vérifié la normalité des populations de fort échantillonnage. En exemple, la figure N°1 nous donne l'histogramme représentant la vérification faite pour la population mâle dans le cas du dosage des protéines totales ; nous pourrions constater la parfaite concordance de la valeur donnée par le point médian de cet histogramme, avec la valeur calculée de la moyenne arithmétique. Nous avons porté en abscisses la valeur $1,96 \sigma$, qui correspond à l'intervalle de confiance pour une vipère mâle isolée (au seuil de 95 %).

Dans chaque série de dosages, nous avons distingué l'échantillonnage mâle de l'échantillonnage femelle, et nous avons calculé pour chacun d'eux :

1. - La moyenne arithmétique m

$$2. - \text{L'écart-type } \sigma = \sqrt{\frac{1}{n-1} \left(T2 - \frac{T1^2}{n} \right)}$$

n : Nombre d'échantillons

$T1$: Somme des valeurs

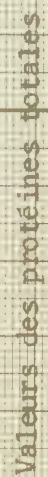
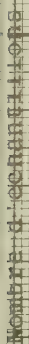
$T2$: Somme des carrés des valeurs

3. - L'intervalle de confiance IC

Celui-ci était calculé pour l'ensemble d'une population et non pour un individu isolé.

HISTOGRAMME DES VALEURS DES PROTEINES TOTALES

(*Vipera aspis* mâles)



5 50

AO

五

50

10

10

100

2/8

Moy = 55

Dans le cas d'un nombre d'échantillons $n < 30$, nous avons employé la table de Student donnant la valeur t . Quand ce nombre était ≥ 30 , nous avons utilisé la table donnant l'écart réduit ϵ pour une population normale.

C'est-à-dire :

- Pour $n < 30$	$IC = m \pm t \frac{s}{\sqrt{n}}$
-----------------	-----------------------------------

- Pour $n \geq 30$	$IC = m \pm \epsilon \frac{s}{\sqrt{n}}$
--------------------	--

NOTE : Pour connaître l'intervalle de variation possible pour un sujet isolé, il aurait fallu écrire :

- Pour $n < 30$	$IC = m \pm t \sigma$
-----------------	-----------------------

- Pour $n \geq 30$	$IC = m \pm \epsilon \sigma$
--------------------	------------------------------

Possédant donc ces 3 données calculées statistiquement, il nous était alors possible d'établir, pour chaque type de constante biologique envisagé, si la différence était significative ou non entre la population mâle et la population femelle, et dans l'affirmative, de préciser le degré de signification de cette différence. Le seuil de signification était celui classiquement choisi de 5 %.

L'indice A caractérisant les mâles et l'indice B les femelles, nous avons calculé :

- Pour $n_A + n_B - 2 \geq 30$	$\epsilon = \frac{m_A - m_B}{\sqrt{\frac{\sigma_A^2}{n_A} + \frac{\sigma_B^2}{n_B}}}$
--------------------------------	---

1. - Si $\epsilon < 1,96$: la différence n'est pas significative au seuil de 5 %.

2. - Si $\epsilon \geq 1,96$: la différence est significative et le degré de signification lu dans la table de l'écart réduit.

- Pour $n_A + n_B - 2 < 30$, la variance commune des deux populations :

$$\sigma^2 = \frac{\left(T_2 - \frac{T_1^2}{n_A} \right) A + \left(T_2 - \frac{T_1^2}{n_B} \right) B}{n_A + n_B - 2}$$

Puis :

$$t = \frac{m_A - m_B}{\sqrt{\frac{\sigma^2}{n_A} + \frac{\sigma^2}{n_B}}}$$

Soit alors TC la valeur de t correspondant au seuil de probabilité de 5 % :

1. - Si $t < TC$: la différence n'est pas significative au seuil de 5 %.

2. - Si $t \geq TC$: la différence est significative et le degré de signification pour $n_A + n_B - 2$ est lu dans la table de Student.

oOo

CHAPITRE II

HEMATOCRITE & VITESSE DE SEDIMENTATION GLOBULAIRE

HEMOLYSE - COMPOSITION MINERALE GLOBULAIRE

Des microhématocrites ont été effectués sur le sang de 91 vipères mâles et 43 femelles. Le sang était introduit en tubes capillaires de 7,5 cm de long, dont une extrémité était ensuite obturée à la flamme d'un bec Bunsen. Après centrifugation pendant 3 minutes, à 12 000 t/mn, en centrifugeuse "Beckman/Spinco 152 Microfuge", la lecture était faite sur réglette Hawksley. Nous avons obtenu les résultats suivants :

	Moyenne	σ	I.C.
Vipère mâle	36,43	6,62	1,35
Vipère femelle	32,65	6,18	1,85

Tableau N°I : Hématocrites

La valeur obtenue pour ϵ est de 3,150. La différence entre l'hématocrite moyen de la population mâle et celui de la population femelle est significative à près de 1 pour 1 000. Cela signifie donc que, en reprenant un nouveau groupe de vipères mâles et un nouveau groupe de vipères femelles, il n'y a qu'une chance sur 1 000 pour que la différence ne soit pas significative. Il est intéressant d'autre part de mettre nos résultats en parallèle avec

les valeurs connues pour l'espèce humaine, soit respectivement $44,9 \pm 6,3$ pour l'Homme et $40,7 \pm 5,5$ pour la Femme, d'après les traités classiques (POLONOVSKI).

Quant à la vitesse de sédimentation, nous avons déjà rapporté les résultats obtenus par Madame MORGAND-LAUMIN (1969) (114) par la méthode de Westergreen. A savoir :

- 5,6 et 12,2 mm/heure, respectivement après 1 heure et 2 heures de sédimentation d'un sang citraté ;
- 4,8 et 10,7 mm/heure, respectivement après 1 heure et 2 heures de sédimentation d'un sang pur.

L'appréciation de la résistance globulaire, c'est-à-dire de la résistance des globules rouges à l'éclatement, a été réalisée en observant l'hémolyse par hypotonie, produite lorsque la dilution abaisse la teneur en électrolytes.

Nous avons mesuré le degré d'hémolyse en présence de solutions de chlorure de sodium de concentrations décroissantes (5, 4.8, 4.6, ..., 1 g pour 1 000). Ceci était réalisé en laissant tomber une goutte de sang (toujours égale) dans tous les tubes de la gamme des concentrations, contenant chacun exactement la même quantité de solution. Les tubes étaient alors agités vigoureusement et laissés au repos pendant deux heures au minimum avant la lecture. L'estimation de l'hémolyse de 0 à 100 pour 100 faite pour 12 vipères différentes, nous a permis de construire une courbe en forme de S, l'hémolyse débutante ayant lieu pour une solution contenant 3,2 g/1.000 de chlorure de sodium et l'hémolyse totale pour 2,2 g/1.000 (Figure N°2).

La résistance globulaire moyenne du sang hépariné de Vipera aspis correspondrait donc à une concentration de 2,7 g/1.000 en chlorure de sodium. Notons que chez l'Homme, cette concentration est de 4 g/1.000, donc assez nettement plus élevée, ce qui nous permet de conclure à une forte résistance à l'éclatement des globules rouges de Vipère.

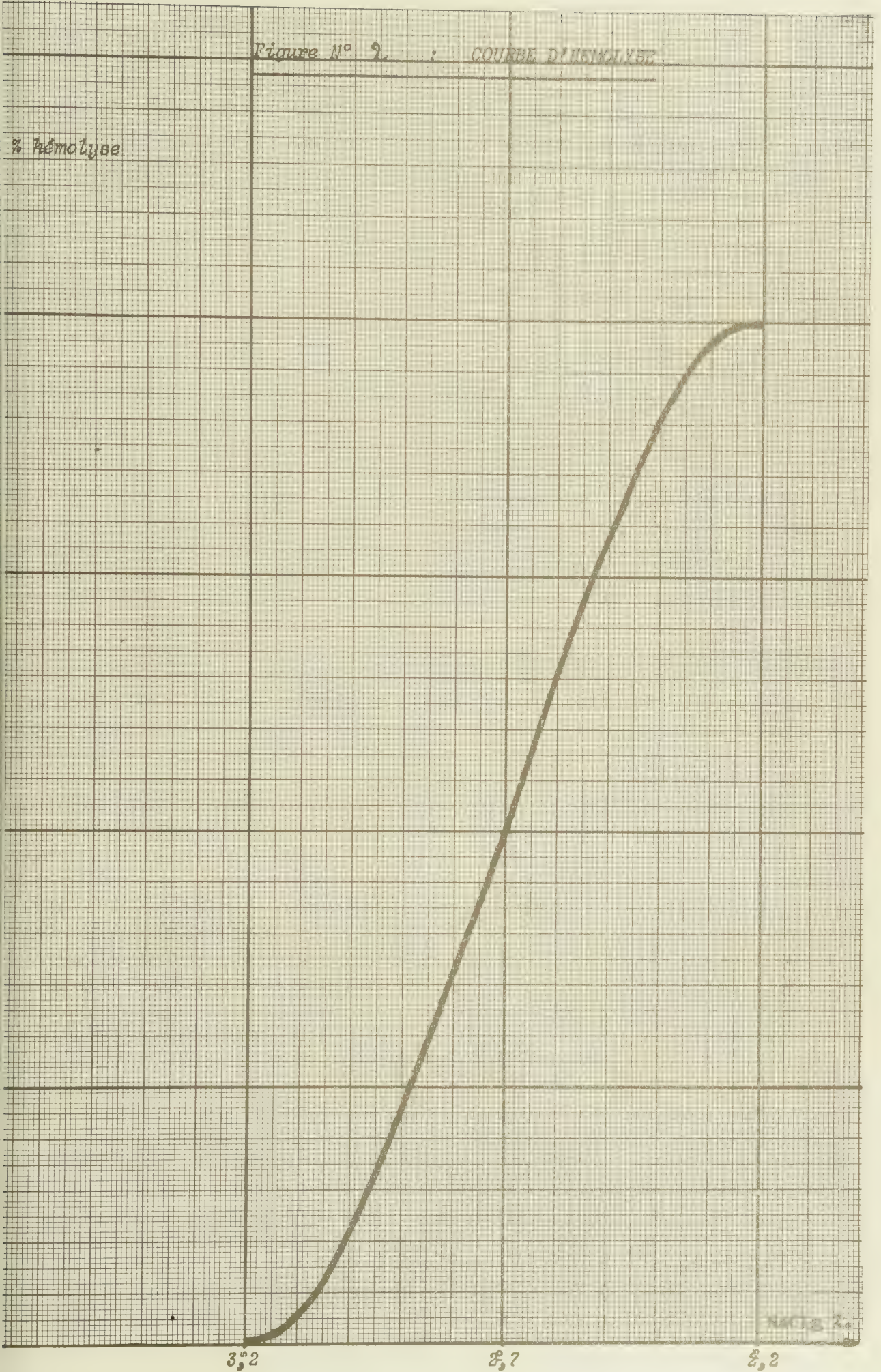
Figure N° 2 : COURBE D'INSOLUBILITE

% hémolyse

3,2

2,7

2,2



Nous avons abordé l'étude de la composition minérale des hématies, en réalisant, par photométrie de flamme, 14 dosages du potassium, 11 dosages du sodium et du calcium chez des vipères mâles, et 7 de chacun de ces dosages chez des vipères femelles.

Méthode -

Séparer les hématies du plasma par centrifugation. Laver trois fois avec du sérum glucosé à 5 %. Entre chaque lavage centrifuger et enlever le surnageant. Après le dernier lavage, prélever un ml de cellules et ajouter 2 ml d'eau distillée (il était tenu compte de cette dilution au tiers dans le résultat final). Agiter, compléter l'hémolyse par congélation. Laisser dégeler lentement. Ajouter 0,4 ml de chloroforme et agiter de nouveau vigoureusement pendant cinq minutes. Centrifuger 15 minutes à 3 000 t/mn. La phase supérieure, filtrée, constitue l'hémolysat sur lequel nous avons travaillé.

Le principe de la technique de photométrie de flamme employée est le suivant : lorsqu'on introduit un élément chimique dans une flamme, celle-ci prend une coloration particulière de l'élément considéré. L'analyse spectrale de cette lumière colorée permet de mesurer l'intensité des raies les plus caractéristiques sélectionnées au moyen d'un filtre interférentiel. Nous avons utilisé un photomètre à flamme de Schuhknecht.

La solution étalon contenait 5 mEq/l d'ion Ca^{++} , 5 mEq/l d'ion K^{+} et 140 mEq/l d'ion Na^{+} . Elle était diluée au 1/20 pour les dosages du calcium et du potassium, alors que l'hémolysat était dilué respectivement au 1/2 et au 1/100. La solution étalon était diluée au 1/400 et l'hémolysat au 1/4 pour le dosage du sodium. Nos résultats sont consignés dans le tableau N°II, et comparés avec les valeurs connues pour l'Homme.

La différence n'est pas significative au seuil de 5 % fixé, entre vipères mâles et femelles, pour les valeurs trouvées du potassium globulaire. C'est-à-dire qu'il n'y a que 5 % de chances pour que, en comparant 2 nouvelles populations de vipères mâles et femelles, la différence devienne alors significative. La différence est par contre significative au taux de 3 % pour le sodium globulaire, et à un degré très supérieur à 1 pour 1 000 pour le calcium globulaire.

	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>			<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>			<u>Σ</u>	<u>HOMME</u>
	Moyenne	σ	I.C.	Moyenne	σ	I.C.		
POTASSIUM GLOBULAIRE mEq/l	48,23	8,65	4,99	41,71	7,73	7,15	1,682	125
SODIUM GLOBULAIRE mEq/l	5,71	1,17	0,785	7,28	1,60	1,48	2,403	20
CALCIUM GLOBULAIRE mEq/l	1,36	0,18	0,12	1,94	0,23	0,21	6,008	1,2

Tableau N°II - Composition minérale globulaire

Nous avons d'autre part réalisé 6 dosages du chlore globulaire :

Méthode -

- Mélanger soigneusement : Globules..... 1 ml
Eau distillée..... 6 ml
- Bien rincer la pipette ayant servi à prélever les globules.
- Ajouter : Tungstate de sodium 10 %..... 1,5 ml
 H_2SO_4 2/3 N..... 1,5 ml
- Agiter. Laisser reposer une demi-heure. Centrifuger.
- Mélanger : Surnageant..... 5 ml
 HNO_3 N..... 0,7 ml
Ditizone..... 1 goutte
- Titrer par le nitrate mercurique N/20 et multiplier le résultat par 2.

Nous avons ainsi obtenu une valeur moyenne de 30 mEq/l pour le chlore globulaire.

Dans le but d'établir le rapport chloré érythroplasmatique, nous avons réalisé sur les 6 plasmas correspondants, des dosages du chlore plasmatique, par la méthode de Votocek : le prélèvement est titré avec une solution acide de nitrate mercurique en présence de diphenyl-carbazone. Les chlorures présents réagissent avec les ions mercuriques pour donner des chlorures mercuriques solubles, mais indissociés. L'excédent des ions mercuriques au point d'équivalence forme avec la ditizone un sel complexe bleu-violet :

Méthode -

- Mélanger : Sérum..... 1 ml
 HNO_3 12,5/1 000..... 2 ml
Ditizone..... 1 goutte

- Titrer par le nitrate mercurique N/20. Soit n le nombre de ml utilisés ; la valeur du chlore plasmatique est donnée par $50 n$ mEq/l.

Nous avons ainsi obtenu successivement : 165, 145, 170, 135, 165 et 145 mEq/l pour le chlore plasmatique.

Le rapport chlore érythroplasmaticque varie peu autour de la valeur moyenne 0,20 :

$$\frac{\text{Chlore globulaire}}{\text{Chlore plasmatique}} = 0,20$$

Ce même rapport étant voisin de 0,50 chez l'homme ; nous constatons donc une valeur nettement plus faible pour Vipera aspis.

oOo

CHAPITRE III

HEMOGLOBINE : DOSAGE & ETUDE ELECTROPHORETIQUE

La teneur en hémoglobine sanguine a été dosée par la technique "Merckotest" chez 26 vipères mâles et 14 femelles. Dans un tube à essai parfaitement propre, on ajoute à 0,02 ml de sang prélevé avec une micro-pipette, 5 ml de la solution de réaction suivante :

- Hexacyanoferrate de Potassium..... 200 mg/l
- Cyanure de Potassium..... 50 mg/l
- Dihydrogénophosphate de Potassium..... 140 mg/l
- Détergent..... 0,50 %

Les dérivés de l'hémoglobine (sauf la verdoglobine) sont convertis quantitativement en cyanhémiglobine, et après 3 minutes au plus tôt, on mesure l'extinction par rapport à la solution de réaction. Nous avons employé un spectrophotomètre Zeiss, avec un maximum d'extinction à 540 mμ. La teneur en hémoglobine est alors calculée en appliquant :

$$\text{Teneur en Hb} = \text{Densité optique} \times 36,77 \text{ g/100 ml}$$

Le facteur 36,77 tient compte de la dilution de l'échantillon et du coefficient d'extinction propre à l'hémoglobine.

Nous avons obtenu, en g/100 ml :

	Moyenne	σ	I.C.
Vipère mâle	11,9	2,1	0,85
Vipère femelle	9	2,2	1,25

Tableau N° III : Teneur en hémoglobine

La valeur de l'écart réduit est de 3,761. La différence entre les échantillons mâles et femelles est significative à mieux de 1 p. 1 000. Rappelons que pour l'espèce humaine, la teneur en hémoglobine sanguine chez l'homme est comprise entre 14 et 18 g pour 100 ml, et chez la femme, entre 12 et 16 g pour 100 ml. Notons enfin que Madame MORGAND-LAUMIN (1969) (114), avait obtenu par une méthode différente décrite antérieurement, une valeur moyenne de l'hémoglobine, pour 35 vipères mâles, de 8,7 g p. 100 ml. Cette valeur se trouve donc être inférieure à la nôtre, ce qui est peut-être explicable par le fait que les conditions expérimentales ne sont pas toujours uniformes.

Nous avons tenté de réaliser, d'autre part, avec l'hémolysat obtenu pour l'étude de la composition minérale des hématies, le fractionnement électrophorétique, sur gel d'acétate de cellulose, de l'hémoglobine de Vipera aspis. Nous mettions toujours en parallèle un hémolysat de sang humain. Nous avons utilisé des bandes Cellogel (5,7 × 14 cm), conservées dans une solution de méthanol à 35 %. Le mode opératoire était le suivant :

- Immerger les bandes 15 mm dans le tampon. Tris-glycine de pH 9,5 :

Tris..... 14,1 g
 Glycine..... 22,6 g
 Eau q.s..... 1 litre

- Eliminer l'excès de liquide entre deux feuilles de papier filtre.

- Effectuer le dépôt avec un microapplicateur sur la surface mate des membranes de Cellogel, du côté cathodique, en laissant une marge sur les bords.
- Place les bandes dans la cuve électrophorétique contenant le tampon réfrigéré ; les tendre et les maintenir au moyen de tampons de papier filtre, en opérant rapidement pour éviter une dessiccation trop importante. Les extrémités des bandes doivent tremper dans le tampon.
- Fermer la chambre de migration. Effectuer la migration à 200 volts pendant une heure en milieu réfrigéré.
- Déconnecter. Enlever les bandes en les tenant horizontalement et les placer 5 mn dans le colorant :

- Rouge ponceau S..... 0,5 g
- Acide trichloracétique à 5 % 100 ml

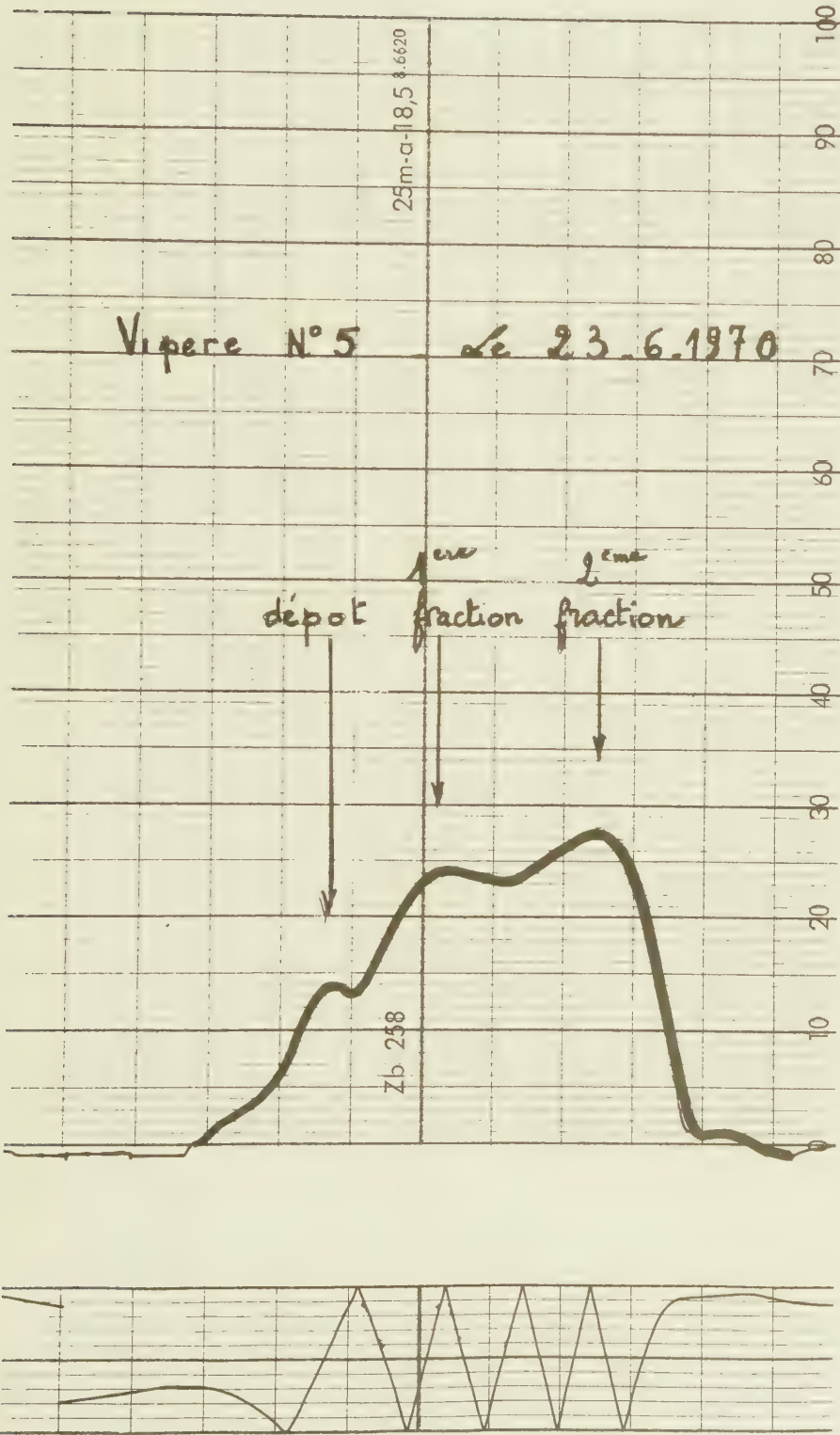
- Rincer dans 3 ou 4 bains d'acide acétique à 5 %.
- Immerger les bandes décolorées dans une solution de méthanol pur, pour les déshydrater, pendant 30 secondes.
- Substituer le méthanol par la solution transparisante :

- Méthanol..... 85 ml
- Acide acétique..... 14 ml
- Glycérol..... 1 ml

- Après une minute, étendre la bande Cellogel sur une lame de verre très propre, en éliminant les bulles d'air.
- Eliminer l'excès de liquide avec une feuille de papier filtre et porter à l'étuve à 140°C pendant quelques minutes, jusqu'à transparence complète.

Nous avons pu ainsi mettre en évidence, pour 14 migrations électrophorétiques réalisées, deux fractions hémoglobiniques proches l'une de l'autre (et même parfois confondues). Par rapport à l'hémolysat humain de référence,

Figure n° 3 - FRACTIONNEMENT ELECTROPHORETIQUE DE L'HEMOGLOBINE



ces fractions, de vitesse électrophorétique faible, se déplaçaient environ comme l'hémoglobine dite A₂.

Comme le montre la figure N°3, nous obtenons 2 pics distincts (un troisième pic représentant le dépôt de l'hémolysat) après lecture densitométrique sur un appareil GELSCAN.

oOo

CHAPITRE IV

PROTEINES PLASMATIQUES : TENEUR GLOBALE & ETUDE ELECTROPHORETIQUE

Nous avons recherché la valeur des protéines sériques totales chez 81 vipères mâles et 42 vipères femelles, par réfractométrie, c'est-à-dire en mesurant l'indice de réfraction du plasma, à l'aide du réfractomètre de Abbe.

Méthode -

Laisser tomber 2 à 3 gouttes de plasma sur le prisme inférieur, (sans le toucher). Obturer le réfractomètre et faire la lecture en indice de réfraction sur la graduation supérieure.

Le tableau de Reiss donne la correspondance entre l'indice réfractométrique et la concentration en protéines. Nous avons obtenu les résultats suivants :

	Moyenne g/l	σ	I.C.
Vipère mâle	55,43	12,27	2,67
Vipère femelle	65,26	15,14	4,58
Homme	72	-	3,5

Tableau N° IV

Nous pouvons donc constater que le taux de protéines totales est moins élevé en général chez la Vipère que chez l'Homme, et que celui trouvé chez l'animal femelle est nettement supérieur à celui trouvé pour le mâle ; la différence est d'ailleurs significative à 1 pour 1 000 ($\epsilon = 3,885$).

Nous avons ensuite étudié par l'analyse électrophorétique sur acétate de cellulose, 93 échantillons de plasma provenant de vipères mâles et 50 échantillons provenant de femelles. A cet effet, et pour tenter de déterminer la position du fibrinogène, nous avons utilisé des anticoagulants différents pour le recueil du sang, c'est-à-dire l'héparine, l'oxalate et le mélange de Wintrobe. Pour chaque série d'électrophorèses, nous avons joint un, ou même deux échantillons humains à titre de témoins.

La migration électrophorétique se faisait donc sur un support d'acétate de cellulose, en cuve Microzone BECKMAN, modèle R 101. A la différence du papier, l'acétate de cellulose n'absorbe pas les protéines, ce qui permet de rendre négligeable la trainée apparaissant derrière la migration des fractions.

Méthode -

- Pré-humecter la membrane en la posant à la surface du tampon de pH 8,6 et de force ionique 0,075.
- Déposer l'échantillon sur la membrane à l'aide d'un applicateur prélevant 0,25 μ l.
- Effectuer une migration d'une durée de 20 minutes, à 250 volts avec une intensité de départ de 3,5 à 5,8 mA.
- Fixer et colorer pendant 7 à 10 minutes dans la solution :

Rouge ponceau S.....	0,2
Acide trichloracétique.....	3
Acide sulfosalicylique.....	3
Eau distillée q.s.p.....	100

- Rincer dans une solution d'acide acétique à 5 % dans l'eau distillée.

- Transpariser pendant une minute dans une solution préparée extemporanément :

Acide acétique..... 25

Méthanol 95°... 75

- Déposer la membrane sur une plaque de verre portée ensuite à l'étuve à 140°, jusqu'à dessiccation complète.
- Enlever la membrane de la plaque et la conserver en enveloppe plastique.

Le passage des membranes à l'Analytrol BECKMAN nous a permis d'obtenir les protéinogrammes, avec l'intégration de chacune des fractions (Figure N°4). Nous mettions ainsi en évidence 6 fractions, notées de I à VI. Par correspondance avec les fractions des protéinogrammes humains de référence, nous aurions pu attribuer à ces fractions les dénominations suivantes :

- Fraction I : Pré-albumine
- Fraction II : Albumine
- Fraction III : Globuline α
- Fraction IV : Globuline β_1
- Fraction V : Globuline β_2
- Fraction VI : Globuline γ

mais nous n'avons pas identifié de façon absolue à ce premier stade, les différents groupes de protéines. Il est cependant intéressant de signaler que dans ce cas, et par comparaison avec les échantillons humains, nous aurions un dédoublement des globulines β (bien que nous ayons parfois remarqué les globulines β_1 et β_2 confondues).

Nous avons, d'autre part, noté la présence du pic représentant le fibrinogène au niveau de la fraction VI.

Pour chaque tracé, l'intégration des fractions nous rendait possible le calcul des pourcentages représentés par chacune d'elles. Nous avons ainsi établi un protéinogramme type pour Vipera aspis mâle et un autre pour Vipera aspis femelle, d'après le pourcentage moyen de chaque fraction (Tableau N°V).

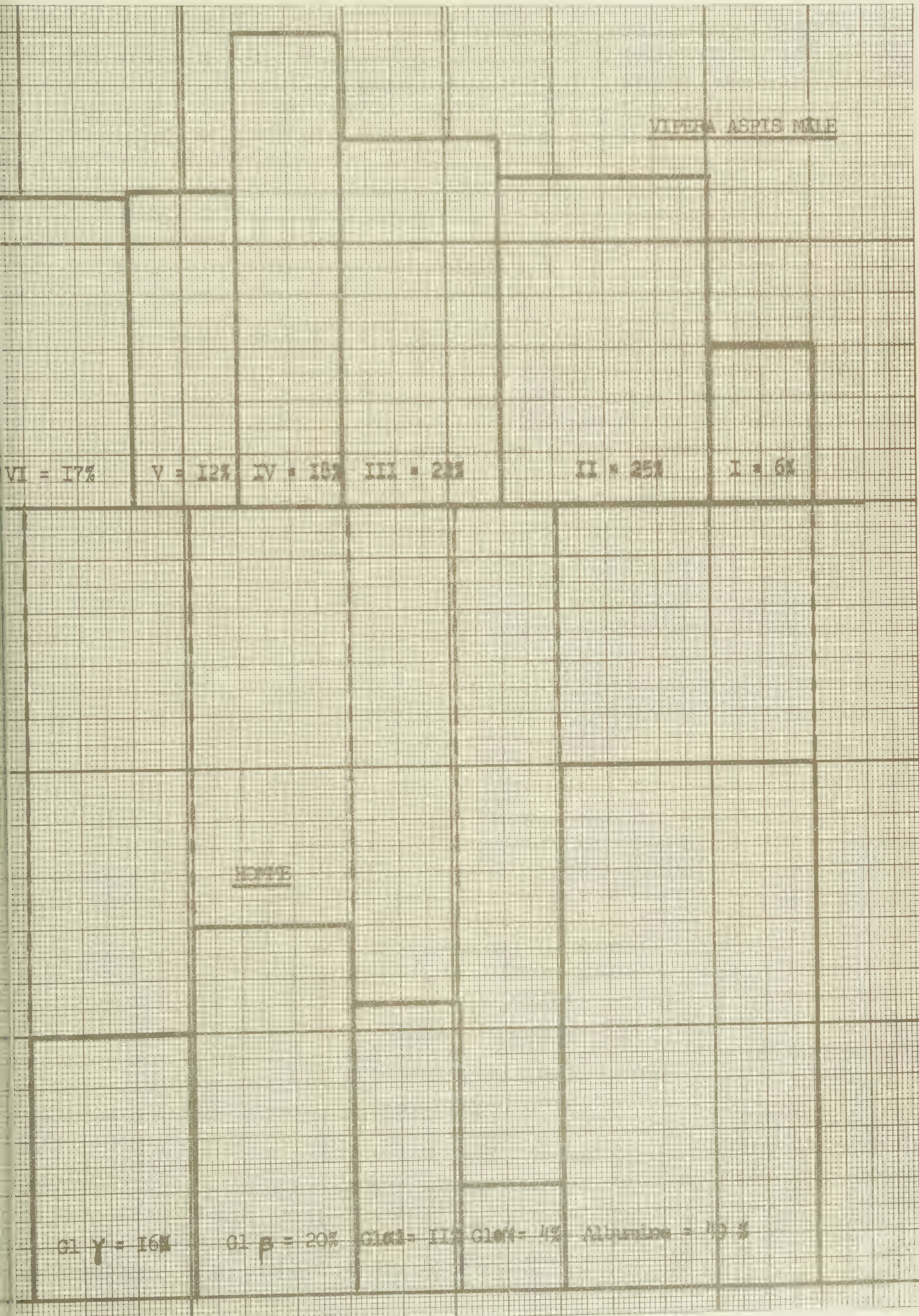
Figure n° 4 - EXEMPLE DE PROTEINOGRAMME

Pré alb	4,6	%
alb	27,7	%
α	23,2	%
β_1	17,3	%
β_2	11,4	%
F + γ	15,8	%



N° 5 - COMPARAISON DES POURCENTAGES ET MOBILITES DES PROTEINES SERIQUES

Les lignes pointillées représentent la correspondance établie entre les fractions du protéinogramme humain et celles du protéinogramme de vipère.



	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>			<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>			<u>ε</u>	<u>DIFFERENCE</u>
	Moy. %	σ	I.C.	Moy. %	σ	I.C.		
FRACTION I	6,2	2,3	0,47	3,5	1,6	0,47	7,067	Significative à + de 1 p. 1 000
FRACTION II	25,2	3,9	0,8	23,2	3,9	1,1	2,877	- id -
FRACTION III	22,2	3,1	0,64	17,6	3,3	0,92	8,188	- id -
FRACTION IV	18,5	3,1	0,67	23,7	25,2	7,1	1,805	Non significative
FRACTION V	11,9	3,7	0,82	17,9	4,1	1,15	8,444	Significative à + de 1 p. 1 000
FRACTION VI	16,5	5,6	1,15	17,5	6,5	1,8	0,965	Non significative

Tableau N°V : Protéinogrammes

Un premier examen des résultats nous permet tout d'abord de constater que la différence entre les populations mâles et femelles est significative pour 4 des fractions protéiniques sur les 6 observées. Les protéinogrammes de vipères mâles et femelles diffèrent donc de façon sensible, et cela s'exprime chez la femelle par rapport au mâle par :

- Fraction I (pré-albumine ?) moins importante,
- Fraction III (α -globuline ?) moins importante,
- Fractions IV et V (β -globulines ?) plus importantes.

La fraction VI, incluant donc le fibrinogène, est celle qui sur l'ensemble des graphiques et des résultats chiffrés, nous a paru constituer celle qui subit les plus grandes variations, fait analogue à la γ -globuline chez l'homme.

Nous avons remarqué enfin, chez la femelle en particulier, une fraction III très asymétrique, ce qui peut laisser supposer un dédoublement possible.

Un calcul rapide, d'après les résultats du tableau N°V, nous a donné en première approximation un rapport $\frac{\text{albumines}}{\text{globulines}}$ voisin de 0,45 chez Vipera aspis mâle et de 0,35 chez la femelle, donc relativement plus élevé pour le mâle.

Nous avons voulu visualiser, à la figure N°5, la comparaison des valeurs en pourcentage, et des mobilités des protéines de l'Homme avec celles de Vipera aspis mâle.

CHAPITRE V

GLUCOPROTEINES PLASMATIQUES

Les glucoprotéines sont des combinaisons de protides avec des constituants polysaccharidiques. A l'électrophorèse, ces glucoprotéines migrent selon les protides qui entrent dans leur constitution et les glucidogrammes, ou glucoprotéinogrammes, sont les tracés électrophorétiques obtenus après révélation par une coloration spécifique.

Nous avons réalisé 13 migrations électrophorétiques sur papier avec des échantillons de sérums de vipères mâles et 8 migrations avec des échantillons femelles. Des échantillons de sérums humains étaient pris pour références. Le principe de coloration que nous avons suivi consistait en une oxydation préalable par l'acide périodique, puis réduction par le métabisulfite, enfin coloration proprement dite par la fuschine bisulfitée.

Méthode -

- Noter sur les bandes de papier filtre Schleicher et Schull (26 × 4 cm) la ligne de dépôt de l'échantillon, à 8 cm d'une extrémité.
- Pré-humecter les bandes dans le tampon de Michaelis à pH 8,6.
- Disposer les bandes dans la cuve à électrophorèse, la ligne de dépôt du côté cathodique.
- Déposer une prise d'essai de 50 µl, en maintenant une certaine marge sur les bords de la bande, afin que les fractions n'en sortent pas lors de la migration.

- Effectuer la séparation électrophorétique pendant 17 heures, à 110 volts et 6 mA pour 4 bandes, en tampon de Michaelis (veronal sodique) à pH 8,6.
- Sécher les bandes. Les fixer à l'alcool à 95° pendant 5 minutes.
- Oxyder pendant 5 minutes dans 30 ml d'une solution d'acide périodique à 4 %, à laquelle on a ajouté :

- Acétate de sodium M/5..... 15 ml
- Ethanol 95°..... 100 ml

- Rincer 3 fois à l'alcool à 70°.

- Plonger les bandes dans la solution réductrice préparée extemporanément, pendant 8 minutes :

- Iodure de potassium..... 2 g
- Hyposulfite de sodium..... 2 g
- Eau distillée..... 40 ml

+

- Ethanol 95°..... 60 ml
- HCl 2N..... 1 ml

- Rincer 3 fois à l'alcool à 70°.

- Immerger les bandes pendant 30 minutes dans la fuschine bisulfitee de Schiff, puis laver enfin 3 fois dans l'eau sulfitee de rinçage :

- Métabisulfite de sodium..... 4 g
- Eau distillée q.s.p..... 100 ml

+

- HCl concentré..... 10 ml

La coloration des glucoprotéines apparaît variant du rose au rouge.

Sécher les bandes à l'abri de la lumière.

Figure n° 6 : EXEMPLE DE GLUCOPROTEINOGRAMME

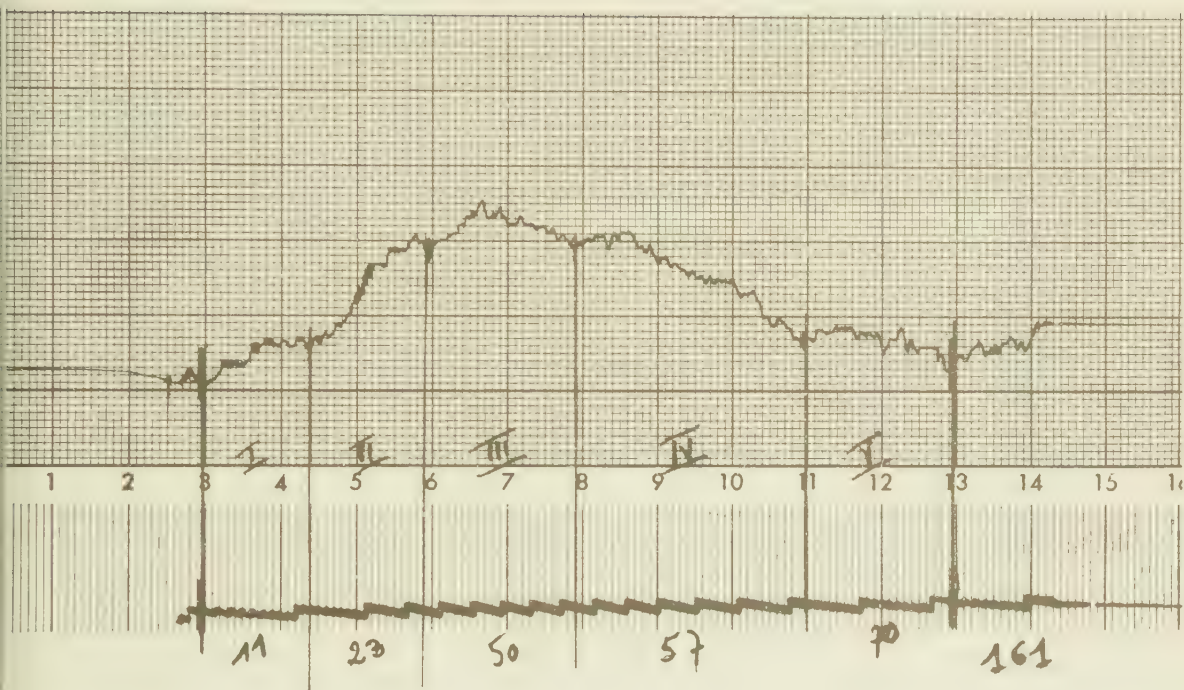
I = 6,8 %

II = 14,3 %

III = 31,1 %

IV = 35,4 %

V = 12,4 %



	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>			<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>			<u>t</u>	<u>DIFFERENCE</u>
	<u>Moy. %</u>	<u>σ</u>	<u>I.C.</u>	<u>Moy. %</u>	<u>σ</u>	<u>I.C.</u>		
GLUCOPROTEINE 1	10,8	3,8	2,3	6,9	3,4	2,8	2,317	Significative à 3 %
GLUCOPROTEINE 2	19,4	2,9	3,1	18,1	6,1	5,6	0,463	Non significative
GLUCOPROTEINE 3	36,3	8,7	9,2	33,3	8,7	8,1	0,608	Non significative
GLUCOPROTEINE 4	22,5	5,9	3,5	29,8	8,4	7	2,337	Significative à 3 %
GLUCOPROTEINE 5	9,9	5,4	3,3	11	7,2	6	0,398	Non significative

Tableau N°VI : Glucoprotéinogrammes

La coloration décrite nous permettait de caractériser sur chaque bande la présence de 5 fractions glucoprotéiniques ; nous en cherchions la correspondance avec les différentes fractions des protéinogrammes sur papier obtenus pour les mêmes échantillons, en colorant non plus par le réactif de Schiff, mais par le rouge Ponceau S.

Les bandes passées à l'Analytrol BECKMAN nous permettaient d'obtenir les glucidogrammes, et l'intégration rendait possible le calcul de la valeur (en pourcentage) de chaque fraction. Nous avons pu ainsi connaître le pourcentage moyen de chaque fraction glucoprotéinique, en fonction du sexe des animaux : tableau N°VI.

Il résulte donc de cette étude que la différence entre un glucidogramme de Vipère mâle et un glucidogramme de Vipère femelle apparaît moins marquée que lorsqu'il s'agissait du protéinogramme. Dans le cas présent, nous constatons seulement un plus fort pourcentage de la glucoprotéine I chez le mâle et de la glucoprotéine IV chez la femelle.

La figure N°6 représente un cas précis de glucoprotéinogramme pour une Vipère femelle.

CHAPITRE VI

LIPOPROTEINES ET LIPIDES PLASMATIQUES

Les lipoprotéines résultent de l'existence d'associations moléculaires des lipides avec les protéines sériques. Les lipoprotéines sont essentiellement des transporteurs de lipides ou de substances liposolubles. L'électrophorèse permet d'isoler différents groupes de lipoprotéines et d'obtenir le lipoprotéinogramme, ou lipidogramme.

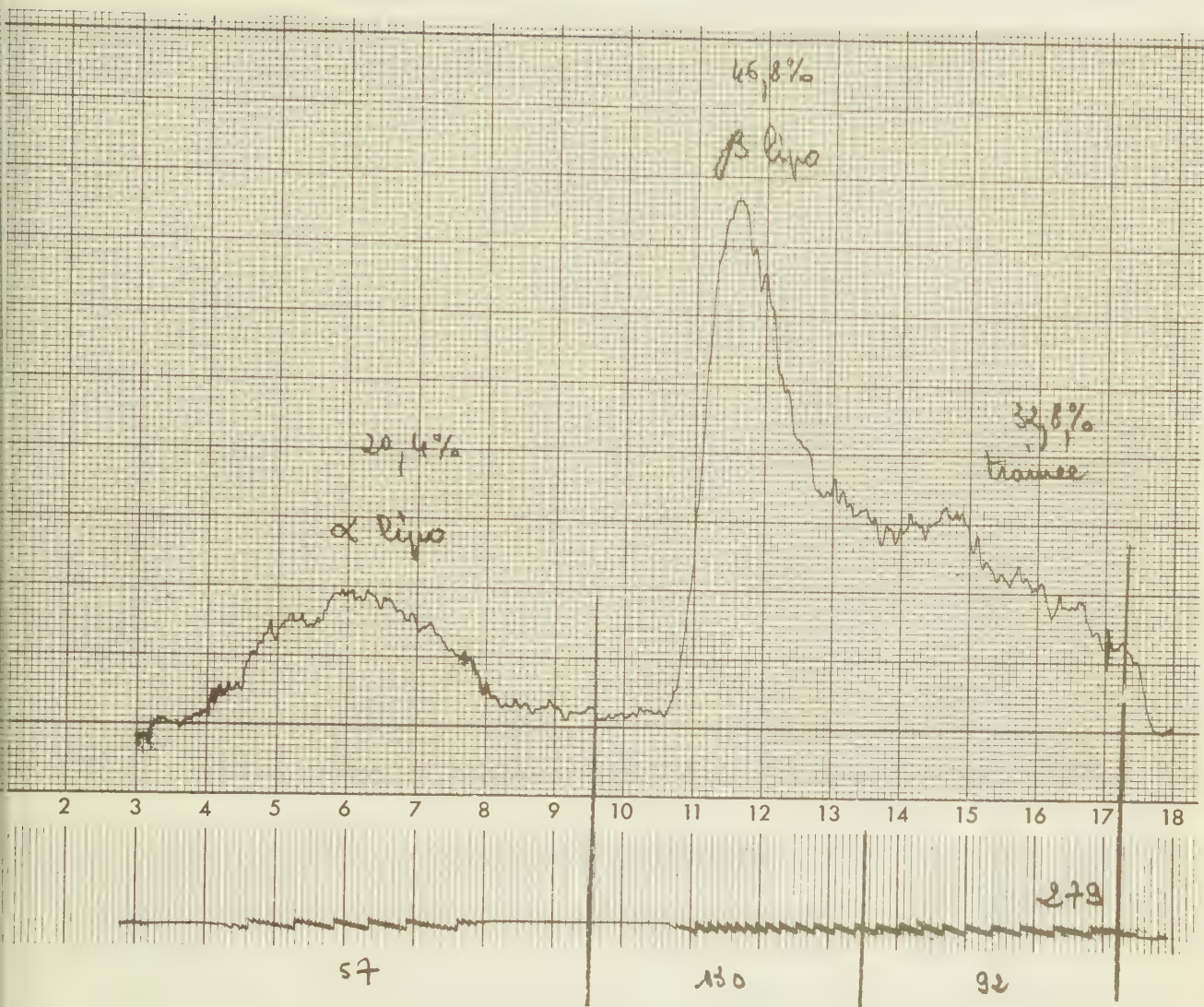
Les électrophorèses sur papier que nous avons réalisées pour 27 sérums de vipères mâles et 17 sérums de vipères femelles, suivaient le mode opératoire précédemment décrit pour l'obtention d'un glucoprotéinogramme. Seul diffère le processus de coloration. Les bandes sont plongées pendant 2 heures dans une solution hydro-alcoolique filtrée de Noir Cérol B :

- Noir Cérol..... 200 mg
- Ethanol absolu..... 100 ml
- Eau distillée..... 100 ml

Elles sont ensuite rincées dans l'alcool à 50° et enfin essorées entre 2 feuilles de papier filtre.

L'Analytrol BECKMAN nous donnait le tracé matérialisant la migration des lipoprotéines, et nous avons pu constater que l'allure d'un lipidogramme de Vipère est sensiblement analogue à celle d'un lipidogramme humain obtenu parallèlement comme témoin. D'autre part, la réalisation simultanée, pour un même échantillon, du protéinogramme sur papier, permettait de situer les lipoprotéines par rapport aux protéines.

Figure n° 7 : EXEMPLE DE LIPOPROTEINOGRAMME



	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>			<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>			<u>t</u>	<u>DIFFERENCE</u>
	Moy. %	σ	I.C.	Moy. %	σ	I.C.		
LIPOPROTEINE 1	25,8	8,5	3,4	16,5	8,5	4,3	3,510	Signif. à + de 1 pour 1 000
LIPOPROTEINE 2	42,5	10,9	6,3	58,1	8,5	6,6	3,608	Signif. à près de 1 p. 1 000
TRAINÉE	32,75	7,4	4,25	26,2	8,2	6,3	1,982	Non significative
LIPIDES TOTAUX g/l	6,55	2,19	1,13	6,06	2,25	1,30	0,622	Non significative
CHOLESTEROL TOTAL g/l	2,88	0,87	0,37	4,27	1,45	0,92	3,612(ε)	Signif. à près de 1 p. 1 000

Tableau N°VII : Lipoprotéines et lipides sériques

Nous obtenions donc 2 constituants lipoprotéiques majeurs, nommés 1 et 2, ainsi qu'une "traînée" assimilée ou non au constituant 2. Le groupe 1 pourrait correspondre à des α -lipoprotéines, alors que le groupe 2 prendrait une position de β -globulines.

La figure N°7 représente un lipidogramme type. Nous avons groupé dans le tableau N°VII le pourcentage moyen représenté par chaque groupe de lipoprotéines chez Vipera aspis mâle d'une part, et Vipera aspis femelle d'autre part.

Les lipoprotéines 1 et 2 apparaissent respectivement plus et moins élevées chez Vipera aspis mâle que chez Vipera aspis femelle.

Nous avons dosé colorimétriquement les lipides sériques totaux chez 17 vipères mâles et 14 vipères femelles, en utilisant la réaction sulfo-phospho-vanillique de CHABROL-CHARONNAT (1937) (23) revue par SCHMIT (1964) (136). Le principe en est que les différents lipides contenus dans le sérum donnent après chauffage en milieu sulfurique, et réaction avec l'acide ortho-phosphorique et la vanilline, une coloration rose.

Le cholestérol et ses esters constituant la majeure partie des lipides, nous avons effectué le dosage du cholestérol total en utilisant la méthode directe de la réaction de Liebermann pratiquée sur le sérum, adaptée à l'Auto-Analyser TECHNICON par BOY, BONNAFE et MAZET (1960) (19) et par RE-NAULT et ETIENNE (1964) (130) (Cf. Méthodologie Auto-Analyser Technicon Edition mars 1966). Nos dosages du cholestérol total ont porté sur 24 échantillons de sérums de vipères mâles et 12 de vipères femelles.

Le tableau N°VII résume nos résultats trouvés pour les lipides totaux et le cholestérol total, en tenant compte du sexe des animaux.

La différence n'est pas significative entre les valeurs des lipides totaux trouvées pour l'ensemble des vipères mâles et celui des femelles. Ces valeurs correspondent à la quantité de lipides sériques totaux connue pour l'Homme (5 à 7 g/l).

Par contre, la différence est significative à près de 1 pour 1 000 quant aux valeurs du cholestérol. Rappelons ce que désigne ce taux de signification : il n'y a environ qu'une chance sur 1 000 pour que, en reprenant

un autre groupe de vipères mâles et un autre groupe de vipères femelles, la différence ne soit plus alors significative. Notons d'autre part que c'est le sérum de vipère femelle qui possède un taux de cholestérol significativement plus élevé, et cela correspond à une fraction plus importante de β -globulines; enfin, le sérum de Vipère en général est très riche en cholestérol par rapport à un sérum humain normal (1,85 g/l).

oOo

CHAPITRE VII

CONSTITUANTS AZOTES NON PROTEIQUES

Les constituants azotés non-protéiques du sang consistent essentiellement en des produits de dégradation des matières protéiques. Parmi eux, nous nous sommes attachés à étudier en particulier l'urée, la créatinine, l'acide urique et la bilirubine dans le sang de la Vipère.

L'urée, la créatinine et l'acide urique ont été dosés en utilisant un Auto-Analyser TECHNICON. Les techniques employées et adaptées pour ce mode de dosage étaient respectivement :

1°/ Pour l'urée :

Technique légèrement modifiée de MARSH, FINGERHUT et MILLER (104) (Cf. Methodologie Auto-Analyser Technicon Edition septembre 1968) : le principe en est une réaction carbamido-diacétyl, fondée sur la réaction directe de l'urée et de la diacétyl monoxyme en présence de thiosemicarbazide en milieu acide. La présence de thiosemicarbazide intensifie la coloration du produit de la réaction et permet de réaliser la détermination sans emploi de réactifs acides concentrés.

2°/ Pour la créatinine :

Méthode modifiée du procédé de FOLIN et WU (59) et adaptée à l'automatisation par STEVENS et SKEGGS d'une part, CHASSON, GRADY et STANLEY d'autre part (Cf. Méthodologie Auto-Analyser Technicon Edition novembre 1966) : le courant d'échantillon, segmenté par de l'air est dilué par une solution de

chlorure de sodium 0,9 %. Ce mélange pénètre dans le dialyseur côté échantillon et dialyse contre un courant de chlorure de sodium 9 p. 1 000 segmenté par de l'air. A la sortie du dialyseur, le dialysat conflue avec un autre courant constitué par un mélange d'acide picrique saturé et d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,5 N. Les courants sont mélangés, envoyés dans une bobine de délai thermostatée à 25°C, puis dans le colorimètre. La coloration développée est mesurée à 505 mμ dans une cuve de colorimètre tubulaire à flux continu de 15 mm.

3°/ Pour l'acide urique :

Technique automatique adaptée de la technique manuelle décrite par HAWK, OSER et SUMMERSON (72) (Cf. Methodologie Auto-Analyser Technicon Edition novembre 1966) : le dosage de l'acide urique repose sur la réaction de réduction d'un complexe phosphotungstique en un complexe phosphotungsteux ; la présence de cyanure de sodium intensifie la coloration et prévient la turbidité. On dilue l'échantillon avec du sérum physiologique et on le segmente avec de l'air. Le courant d'échantillon dilué entre dans le dialyseur d'un côté de la membrane, tandis que le courant de contre-dialyse constitué par une solution physiologique pénètre de l'autre côté et reçoit l'acide urique ayant dialysé. Puis on le mélange à un courant d'acide phosphotungstique et ensuite à un courant de cyanure de sodium. Après mélange et un certain délai pour permettre à la coloration de se développer, le produit coloré de la réaction est mesuré à 660 mμ dans une cuve tubulaire à flux continu de 15 mm.

Nous avons employé, pour le dosage de la bilirubine, la technique fluorimétrique de ROTH (134) qui offre, par rapport à des techniques colorimétriques, l'avantage de la simplicité, d'une bonne reproductibilité et d'une grande sensibilité. Le principe en est le suivant : la bilirubine, en présence de concentrations appropriées d'albumine et d'ions H^+ , se transforme en une forme fluorescente.

Méthode -

- Laisser en contact au moins une minute :

- Sérum..... 100 μl
- Acide orthophosphorique..... 0,6 ml

- Ajouter 1 ml d'eau distillée. Mélanger et mesurer la fluorescence avec un maximum d'excitation à 390 mμ et un maximum de fluorescence à 550 mμ.

Le témoin à blanc était préparé en mélangeant dans l'ordre :

- Sérum..... 100 μl
- Eau distillée..... 1 ml
- Acide orthophosphorique..... 0,6 ml

Les mesures de fluorescence effectuées sur un spectrofluorimètre ZEISS ZFMU II, étaient rapportées à une droite de référence, établie à partir d'une solution étalon à 100 mg/l de bilirubine. Cette solution étalon était préparée de la façon suivante :

Agiter 1 mg de bilirubine, à l'obscurité, avec 0,2 ml de soude 0,05N. La dissolution complète demande 6 minutes. Ajouter alors 9,6 ml d'une solution d'albumine bovine 6 % ; mélanger ; ajouter 0,2 ml d'acide chlorydrique 0,05N et mélanger à nouveau.

La même technique de ROTH était simplement adaptée au dosage fluorimétrique de la bilirubine dans la bile de Vipère. Nous avons réalisé ce dosage pour 21 échantillons de bile, sans distinction de sexe, afin de connaître en première approximation la valeur du rapport $\frac{\text{bilirubine dans la bile}}{\text{bilirubine dans le sérum}}$ pour Vipera aspis.

Tous les résultats obtenus de l'étude des constituants azotés non protéiques du sang de Vipère, sont rapportés dans le tableau N°VIII, avec le nombre de dosages effectués et les valeurs correspondantes chez l'Homme, à titre de comparaison.

Nous pouvons donc constater que pour l'ensemble de ces constituants, le degré de signification, quand il existe, de la différence entre vipères mâles et femelles, se situe entre 3 et 4 %. D'autre part, la comparaison des moyennes obtenues avec les valeurs admises chez l'Homme, nous montre que les constituants azotés sont à un taux plus faible (très nettement pour l'urée et la créatinine) chez la Vipère que chez l'Homme.

	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>				<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>				<u>ε</u>	<u>DIFF.</u>	<u>HOMME</u>
	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.			
UREE g/l	50	0,021	0,011	0,003	36	0,027	0,015	0,005	2,200	Signif. à 3 %	0,30
CREATININE mg/l	12	2,38	1,151	0,73	13	3,36	1,204	0,73	2,091(t)	" 4 %	45
ACIDE URIQUE mg/l	22	33,91	18,34	8,13	10	52,5	29,39	21,02	2,192	" 4 %	40
BILIRUBINE mg/l	21	1,85	1,14	0,52	17	1,19	1,29	0,66	1,695	Non sig.	2 à 8

Tableau N°VIII : Constituants azotés non protéiques

Le résultat moyen des 21 dosages de bilirubine dans la bile est le suivant : $2,43 \text{ g/l} \pm 0,135$ ($\sigma = 0,298$). Nous en déduisons donc un rapport bilirubine dans la bile

variant de 1 500 à 2 000. Ce rapport ne peut être en bilirubine dans le sérum fait qu'approximatif puisqu'il correspond à un rapport de moyennes, alors que l'exactitude aurait voulu qu'il soit le résultat d'une moyenne de rapports. Ces 2 notions, de rapport de moyennes et de moyenne de rapports, ne pouvant être confondues que pour un nombre de déterminations infini. Mais nous avons pensé que dans le cas présent, il était seulement nécessaire et donc suffisant de connaître l'ordre d'idée du rapport.

Mentionnons enfin, dans ce chapitre consacré aux constituants azotés non protéiques du sang de Vipère, que nous avons réalisé 7 nouveaux dosages de la créatinine chez des vipères mâles, mais en utilisant cette fois une micro-méthode rapportée par POPPER, MANDEL et MAYER (123). Le principe en est de provoquer la réaction de Jaffé entre créatinine et acide picrique, formant un complexe rouge-orangé, après déprotéinisation par alcalinisation :

Méthode -

- Mélanger : Sérum..... 100 μ l
Acide picrique 1,4 %..... 250 μ l

- Agiter 30 secondes. Centrifuger 1 minute :

Surageant 250 μ l
Soude 12,5 % 20 μ l

- Centrifuger. Repos 20 minutes. Lecture à 546 $m\mu$ en faisant le zéro avec de l'eau distillée.

- Faire simultanément les mêmes opérations avec, à la place du sérum, de l'eau distillée d'une part (blanc), et une solution standard à 5 mg/100 ml d'autre part.

- Exprimer les résultats grâce au rapport :

$$\frac{\text{D.O. inconnu} - \text{D.O. blanc}}{\text{D O. standard} - \text{D O. blanc}} \times 50 = \text{Nombre de mg de créat./l}$$

Nous avons ainsi obtenu pour la créatinine sérique de Vipère mâle une valeur moyenne de $1,7 \pm 0,58$ mg/l ($\sigma = 0,63$), qui est à rapprocher de la valeur $2,38 \pm 0,73$ mg/l obtenue précédemment. Nous constatons donc un certain écart dû à l'emploi de 2 procédés différents.

oOo

CHAPITRE VIII

pH - RESERVE ALCALINE

Les mesures du pH sanguin de Vipera aspis que nous avons faites demandaient quelques conditions spéciales de prélèvement. Le sang devait être mélangé avec de l'héparine sous forme d'héparinate de sodium pour éviter la coagulation, sans toutefois modifier la valeur du pH ou des autres éléments de l'équilibre acido-basique. Nous utilisions donc des tubes capillaires pré-héparinés. Lors du remplissage, l'héparine se mélange au sang, et on évite toute coagulation en agitant avec un petit barreau de fer doux, introduit dans le tube et promené extérieurement par un aimant permanent. Le remplissage du tube se fait en tenant celui-ci horizontalement, une extrémité plongeant dans la goutte de sang apparaissant à la section de la tête et du corps de l'animal. Le tube se remplit par capillarité, et il est capital qu'aucune bulle d'air n'y soit introduite. Dès qu'il est rempli, on scelle une extrémité à la cire, on introduit le barreau de fer doux et on scelle l'autre extrémité. Nos 24 mesures du pH sanguin de vipère mâle, et nos 14 mesures du pH sanguin de vipère femelle ont été faites sur un pH-mètre 27 Radiometer, au maximum 2 h. après le prélèvement. Pour cela une des extrémités du tube capillaire est coupée, le barreau aimanté est enlevé, l'autre extrémité du tube sectionnée, et le sang aspiré enfin dans l'électrode de verre du pH-mètre.

Le pH du sang est relié à l'équilibre acido-basique ; pour connaître celui-ci, il est nécessaire de déterminer le taux de bicarbonates du plasma constituant la réserve alcaline. Nous avons mesuré la réserve alcaline du plasma de 12 vipères mâles et de 3 femelles étant restées quelque temps en hibernation artificielle, puis celle du plasma de 16 vipères mâles et de 13 vipères femelles plus récemment capturées. Nous avons utilisé un microgazomètre de Natelson, selon le principe du dosage gazométrique du CO_2 total libéré par action de l'acide lactique.

	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>				<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>				<u>t</u>	<u>DIFF.</u>	<u>HOMME</u>
	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.			
pH	24	7,155	0,074	0,031	14	7,16	0,053	0,031	0,190	Non sig.	7,36
RESERVE ALCALINE mEq/l :											
- Après hibernation	12	17,82	6,76	4,29	3	16,10	-	-	-	"	
- Capture récente	16	32	5,28	2,8	13	22,73	5,2	3,14	4,734	Signif. à 1 p.1 000	24 à 28

Tableau N°IX : pH et réserve alcaline

Méthode -

Introduire successivement dans l'appareil :

- Plasma..... 0,03 ml
- Mercure..... 0,01 ml
- Acide lactique.. 0,03 ml (Pour dégazer)
- Mercure..... 0,01 ml
- Anti-mousse..... 0,01 ml
- Mercure..... 0,01 ml
- Détergent faible mousse... 0,1 ml
- Mercure, jusqu'à..... 0,12 ml

Fermer la chambre de réaction. Y introduire tous les liquides. Agiter. Remonter le liquide de réaction au niveau 0,12. Lire sur le manomètre joint à l'appareil la valeur P1 mm, puis y faire remonter le mercure jusqu'à l'extrémité supérieure. Ouvrir la chambre. Aspirer 0,03 ml de soude, puis du mercure jusqu'à 0,12 ml. Refermer la chambre de réaction. Introduire la soude. Agiter 5 secondes. Remonter le liquide de réaction au niveau 0,12. Lire sur le manomètre la valeur P2 mm. Un facteur de conversion f est donné par une table, en fonction de la température, et permet d'exprimer le résultat par :

$$\text{Réserve alcaline} = (P1 - P2) \times f$$

Plus encore que le fait que la différence de réserve alcaline soit significative entre les vipères mâles et femelles récemment capturées, il est intéressant de noter la baisse sensible de cette réserve alcaline pendant l'hibernation. Ceci est en accord avec les observations de HAGGAG, RAHEEM et KHALIL (71) faites pour le lézard Varanus greseus, et que nous avons précédemment rapportées.

Remarquons d'autre part la très grande proximité, pour ne pas dire la similitude, des valeurs du pH chez Vipera aspis mâle et femelle. L'intervalle de confiance prouve de plus que les valeurs du pH, dans leur ensemble, varient peu autour de la valeur moyenne.

CHAPITRE IX

ETUDE DE LA GLYCEMIE

Nous avons voulu distinguer, pour cette étude, la glycémie vraie, correspondant au taux du glucose seul dans le sérum, de la glycémie représentée par le taux de sucres réducteurs.

Nous avons tout d'abord effectué 25 dosages de la glycémie vraie chez Vipera aspis mâle et 11 dosages chez Vipera aspis femelle. Mais notons dès maintenant que ces dosages ont été réalisés en 2 temps : une première série, comportant 15 dosages mâles et 10 femelles, sur des vipères ayant subi une hibernation artificielle relativement longue ; une deuxième série, avec respectivement 10 et 1 dosages, sur des vipères plus fraîchement capturées. La microméthode employée pour ces dosages, spécifique donc du glucose, est celle rapportée par KESTON (1956) (93) et par TELLER (150). Le principe en est basé sur l'utilisation du réactif glucostat, système enzymatique renfermant le système glucose-oxydase-peroxydase et un chromogène : l'ortho-dianisidine, qui oxyde le glucose en acide gluconique et H_2O_2 . L'oxygène produit par la réaction de la peroxydase sur H_2O_2 réagit avec l'accepteur chromogénique pour former un complexe coloré stable.

Méthode -

- Déprotéiniser en préparant :

- Sérum.....	10 µl
- Soude 0,05 N.....	150 µl
- $ZnSO_4$ à 5 %.....	40 µl

	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>				<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>				<u>t</u>	<u>DIFF.</u>	<u>HOMME</u>
	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.			
GLYCEMIE VRAIE g/l: - Après hibernation - Capture récente	15	0,134	0,041	0,023	10	0,164	0,04	0,029	1,803	Non sign.	0,70 à 0,90
	10	0,059	0,035	0,025	1	0,040					
SUCRES REDUCTEURS g/l	20	0,218	0,061	0,028	12	0,234	0,096	0,061	0,570	Non sign.	0,85 à 1,10

Tableau N°X : Glycémie

- Mélanger et centrifuger 1 minute. Puis distribuer dans un microtube à essai :

- Surnageant..... 100 μ l
- Glucostat..... 250 μ l
- HCl 5 N..... 10 μ l

- Lire l'absorption à 410 m μ en fonction d'un blanc préparé avec de l'eau distillée.
- Exprimer les résultats par rapport à la densité optique obtenue avec une solution standard de glucose à 0,1 g/100 ml.

Le dosage des sucres réducteurs a été réalisé sur 20 échantillons de sérums de vipères mâles et 12 de vipères femelles. La méthode automatique employée était adaptée à l'Auto-Analyser TECHNICON à partir de la méthode manuelle proposée par HOFFMAN (77) (Cf. Methodologie Auto-Analyser Technicon. Edition novembre 1966). Les échantillons sont dilués avec une solution saline et on les fait dialyser dans un courant de contre-dialyse de ferricyanure de potassium alcalin segmenté par de l'air. On dose le glucose en faisant passer le courant de contre-dialyse dans un bain-marie, puis en mesurant la diminution de l'intensité de la coloration de ferricyanure jaune réduit en ferrocyanure incolore par le glucose. On mesure l'intensité de la coloration à 420 m μ dans une cuve tubulaire à flux continu de 15 mm.

A partir des résultats consignés dans le tableau N°X, nous pouvons conclure :

- Que la glycémie en général chez la Vipère femelle se trouve plus élevée que chez la Vipère mâle, sans pour autant que la différence devienne significative au seuil de 5 % fixé ;
- Que l'influence de l'hibernation sur la glycémie vraie est particulièrement nette ; cette glycémie augmentant pendant l'hibernation, on peut penser que du glycogène stocké serait transformé en glucose, non utilisé par les tissus et donc s'accumulant dans le sang. La comparaison statistique entre les 2 valeurs de la glycémie vraie nous a d'ailleurs permis d'obtenir une valeur de $t = 4,55$, donc de constater une différence significative à un degré supérieur à 1 p. 1 000 ;

- Que la valeur de la glycémie représentée par les sucres réducteurs se trouve de toutes façons supérieure à la glycémie vraie ;
- Que la glycémie en général chez la Vipère est sensiblement plus basse que la glycémie chez l'Homme qui, rappelons-le, est voisine de 1 g/l.

oOo

CHAPITRE X

CONSTITUANTS MINÉRAUX DU PLASMA

Notre étude de la composition minérale du plasma sanguin de Vipera aspis, après les mesures de pH et de réserve alcaline, consistait à doser 5 des électrolytes principaux, à savoir : chlore, sodium, potassium, calcium et phosphore.

Pour déterminer le chlore, nous utilisions la technique automatique adaptée à l'Auto-Analyser TECHNICON par SKEGGS, fondée sur la technique de ZALL, FISCHER et GARNER (167) (Cf. Methodologie Auto-Analyser Technicon. Edition novembre 1966) : l'échantillon est dilué avec une solution acide ; le courant d'échantillon dilué entre dans le dialyseur et le chlore passe dans le courant de contre-dialyse. Celui-ci est mélangé avec le réactif coloré du chlore. L'ion chlore réagit sur l'ion mercurique Hg^{++} de $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ pour former HgCl_2 , libérant SCN^- qui réagit avec Fe^{+++} pour former $\text{Fe}(\text{SCN})_3$, rouge. On mesure l'intensité de la coloration à 480 mμ dans une cuve tubulaire à flux continu de 15 mm.

Le sodium, le potassium et le calcium étaient dosés par la méthode de photométrie de flamme par émission, en utilisant un photomètre à flamme automatique "ELECTROSYNTHESE". Les solutions étalons provenaient de solutions mères de chlorure de potassium à 100 mEq/l, de chlorure de calcium à 100 mEq/l et de chlorure de sodium à 1 000 mEq/l.

Le phosphore était déterminé par microdosage, selon la technique de FISKE et SUBBAROW (56). Le principe en est le suivant : après précipitation des protéines sériques par l'acide trichloracétique, le surnageant contenant les phosphates réagit avec l'acide molybdique pour former l'acide

	VIPERA ASPIS MALE					VIPERA ASPIS FEMELLE					ε	DIFF.	HOMME
	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.	Nombre déterm.	Moyenne	σ	I.C.					
CHLORE mEq/l	57	141,6	12,9	3,4	37	141,8	15,8	5,1	0,075	Non sign.	104		
SODIUM mEq/l	30	170,5	8,54	3,2	15	168,7	12,5	6,9	0,570	"	144		
POTASSIUM mEq/l	28	4,85	1,68	0,65	12	5,58	1,84	1,17	1,216	"	4,6		
CALCIUM mEq/l	33	6,38	0,87	0,29	15	7,21	1,08	0,60	2,849	Signif.+ de 1 %	5		
PHOSPHORE mg/l	34	51,94	20,03	6,73	10	61,80	20,47	14,64	1,362	Non sign.	4111		

Tableau N°XI : Constituants minéraux du plasma

phosphomolybdique qui est réduit par l'acide aminonaphtosulfonique en sous-oxydes de molybdène, bleus.

Méthode -

- Mélanger : Sérum..... 20 µl
Acide trichloracétique 10 %... 150 µl

- Agiter. Laisser reposer 2 minutes. Centrifuger 1 minute. Puis :

Surnageant..... 100 µl
Acide molybdique 2,5 %.... 20 µl

- Agiter. Ajouter 20 µl d'acide aminonaphtolsulfonique. Agiter. Laisser reposer 30 minutes et lire au spectrocromimètre à 650 mµ contre un blanc préparé à partir d'eau distillée.
- Exprimer les résultats par rapport à l'absorption obtenue pour une solution standard de phosphore à 40 mg/100 ml.

Le tableau N°XII résume l'ensemble des résultats obtenus pour la composition minérale du plasma de Vipera aspis. Pour chaque constituant, nous avons précisé le nombre de déterminations effectuées, en distinguant selon le sexe, et nous avons joint par comparaison les valeurs admises pour l'espèce humaine.

Nous devons remarquer dans ce tableau de valeurs, le peu de différences existant dans l'ensemble entre les vipères mâles et femelles, particulièrement pour le chlore et le sodium. D'autre part, les résultats détaillés pour le calcium et le phosphore ont fait apparaître quelques valeurs considérablement élevées chez des vipères femelles fécondées. Nous n'avons d'ailleurs pas fait entrer ces valeurs dans le calcul des moyennes. Notons enfin des taux légèrement inférieurs pour l'espèce humaine.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

La première partie de notre travail a montré que, parmi les Reptiles, les données se rapportant à l'étude du sang de Vipera aspis étaient assez rares. Nous avons donc étudié les divers aspects de la composition biochimique de ce sang, ce qui nous permet de conclure, en résumant à l'extrême, que :

- La valeur de l'hématocrite est de 36,43 % chez la Vipère mâle et de 32,65 % chez la femelle ;
- La résistance globulaire moyenne du sang hépariné correspond à une concentration de 2,7 g pour 1 000 en chlorure de sodium ;
- La composition minérale globulaire s'établit ainsi : 48,23 mEq/l de potassium ; 5,71 mEq/l de sodium et 1,36 mEq/l de calcium chez la Vipère mâle, et respectivement 41,71 ; 7,28 et 1,94 mEq/l chez la femelle .
D'autre part, le rapport chloré érythroplasmatisque est voisin de 0,20 ;
- La teneur en hémoglobine est de 11,7 g/100 ml chez Vipera aspis mâle et de 9 g/100 ml chez la femelle. L'étude électrophorétique met par ailleurs en évidence la migration de 2 fractions distinctes ;
- L'électrophorèse permet d'individualiser 6 fractions sur le protéinogramme de Vipère, la première pouvant être considérée comme une pré-albumine ; 5 fractions sur le glucoprotéinogramme ; enfin 3 fractions sur le lipoprotéinogramme, la troisième fraction correspondant à une "traînée" ;
- Le taux de cholestérol est élevé, soit 2,88 g/l chez la Vipère mâle, moyenne pour 24 dosages, et 4,27 g/l chez la femelle, pour 12 dosages ;

- Les constituants azotés non-protéiques, à savoir : urée, créatinine, acide urique et bilirubine, représentent respectivement en moyenne : 21 mg/l ; 2,38 mg/l ; 33,91 mg/l et 1,85 mg/l chez Vipera aspis mâle ; et 27 mg/l ; 3,36 mg/l ; 52,5 mg/l et 1,19 mg/l chez Vipera aspis femelle ;
- Le pH reste très stable autour de la valeur moyenne de 7,16 chez la Vipère, quel que soit le sexe ;
- La glycémie représentée par le taux de sucres réducteurs (plus de 0,20 g/l) est très supérieure à celle exprimée en glucose vrai (de 0,04 à 0,16 g/l) ;
- La composition minérale plasmatique est la suivante : 141,6 mEq/l de chlore ; 170,5 mEq/l de sodium ; 4,85 mEq/l de potassium ; 6,38 mEq/l de calcium et 51,94 mg/l de phosphore chez la Vipère mâle. Et respectivement 141,8 mEq/l ; 168,7 mEq/l ; 5,58 mEq/l ; 7,21 mEq/l et 61,8 mg/l chez la Vipère femelle.

La différence nous est apparue significative entre les valeurs moyennes obtenues pour Vipera aspis mâle d'une part et Vipera aspis femelle d'autre part, pour les dosages suivants :

- Calcium globulaire, hémoglobine et protéines totales à mieux de 1 p. 1 000,
- Hématocrite et cholestérol à près de 1 pour 1 000,
- Sodium globulaire, urée, créatinine et acide urique à 3 ou 4 %,
- Calcium plasmatique à plus de 1 %.

Par contre, la différence ne semble pas significative entre les populations mâles et femelles, pour les valeurs du potassium globulaire, des lipides totaux, de la bilirubine, du pH, de la glycémie ; enfin du chlore, du sodium, du potassium et du phosphore plasmatiques.

Par rapport à l'espèce humaine, l'hématocrite, les ions globulaires, l'hémoglobine, les protéines totales, les constituants azotés, le pH et la glycémie ont tous des valeurs moyennes inférieures. Par contre, le cholestérol et les constituants minéraux du plasma sont à des taux plus élevés.

<u>DOSAGE</u>	<u>VIPERA ASPIS MALE</u>		<u>VIPERA ASPIS FEMELLE</u>	
	Nombre déterm.	Moyenne - I.C.	Nombre déterm.	Moyenne - I.C.
HEMATOCRITE %	91	36,43 ± 1,35	43	32,65 ± 1,85
HEMOGLOBINE g/100 ml	26	11,7 ± 0,85	14	9 ± 1,25
<u>Globules :</u>				
POTASSIUM mEq/l	14	48,23 ± 4,99	7	41,71 ± 7,15
SODIUM mEq/l	11	5,71 ± 0,78	7	7,28 ± 2,40
CALCIUM mEq/l	11	1,36 ± 0,12	7	1,94 ± 0,21
<u>Plasma :</u>				
PROTEINES TOTALES g/l	81	55,43 ± 2,67	42	65,26 ± 4,58
LIPIDES TOTAUX g/l	17	6,55 ± 1,13	14	6,06 ± 1,30
CHOLESTEROL g/l	24	2,88 ± 0,37	12	4,27 ± 0,92
UREE g/l	50	0,021 ± 0,003	36	0,027 ± 0,005
CREATININE mg/l	12	2,38 ± 0,73	13	3,36 ± 0,73
ACIDE URIQUE mg/l	22	33,91 ± 8,13	10	52,50 ± 21,02
BILIRUBINE mg/l	21	1,85 ± 0,52	17	1,19 ± 0,66
<u>GLUCOSE g/l :</u>				
- Après hibernation	15	0,134 ± 0,023	10	0,164 ± 0,029
- Début hibernation	10	0,059 ± 0,025	1	0,040
SUCRES REDUCTEURS g/l	20	0,218 ± 0,028	12	0,234 ± 0,061
pH	24	7,15 ± 0,03	14	7,16 ± 0,03
<u>RESERVE ALCALINE mEq/l :</u>				
- Après hibernation	12	17,82 ± 4,29	3	16,10
- Début hibernation	16	32 ± 2,81	13	22,73 ± 3,14
CHLORE mEq/l	57	141,6 ± 3,4	37	141,8 ± 5,1
SODIUM mEq/l	30	170,5 ± 3,2	15	168,7 ± 6,9
POTASSIUM mEq/l	28	4,85 ± 0,65	12	5,58 ± 1,17
CALCIUM mEq/l	33	6,38 ± 0,29	15	7,21 ± 0,60
PHOSPHORE mg/l	34	51,94 ± 6,73	10	61,80 ± 14,64

Tableau récapitulatif N°XII

- Composition biochimique du sang de Vipera aspis -

Notons enfin l'influence de l'hibernation artificielle imposée aux animaux pour leur conservation. La réserve alcaline diminue en état d'hibernation, passant de 32 mEq/l à 17,82 mEq/l chez Vipera Aspis mâle et de 22,73 mEq/l à 16,1 mEq/l chez la femelle. Par contre, dans les mêmes conditions, la glycémie vraie augmente de 0,059 g/l à 0,134 g/l chez la Vipère mâle et de 0,04 g/l à 0,164 g/l chez la femelle.

Nous avons rassemblé tous nos résultats dans le tableau récapitulatif N°XII, permettant d'obtenir une vue d'ensemble sur la composition biochimique du sang de Vipera aspis.

Compte tenu du fait qu'un certain nombre de facteurs précités n'avaient jamais donné lieu à publication dans toute la littérature que nous avons pu consulter, et que par ailleurs ceux qui avaient été inventoriés ne correspondaient la plupart du temps qu'à la moyenne fournie par un très petit nombre d'individus, nous croyons ce modeste travail susceptible d'avoir apporté une certaine contribution à l'étude du biochimisme de Vipera aspis et nous souhaitons en tous cas qu'il puisse servir de base à des dosages encore plus nombreux et des recherches plus approfondies.

-o-o-

VU

Clermont - Ferrand le 25 novembre 1970

Le Président du Jury :

G.DASTUGUE

VU et Permis d'imprimer N° Ph. 10/70

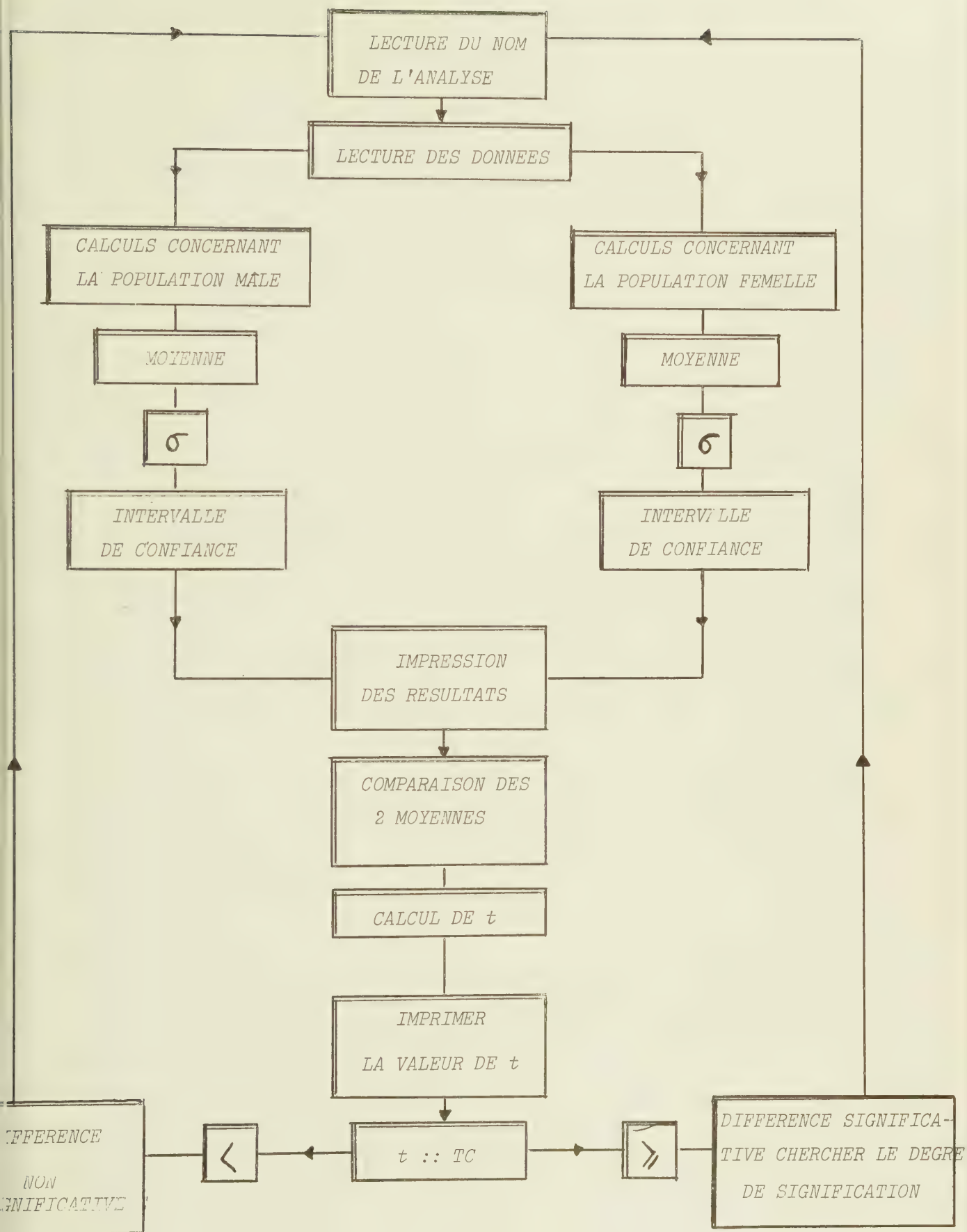
Clermont-Ferrand le 26 novembre 1970

Le Doyen de la Faculté mixte de Médecine
et de Pharmacie :

G. MEYNIEL

- A P P E N D I C E -





PROGRAMME D'EXPLOITATION DES RESULTATS

ECRITURE FORTRAN

```
DIMENSIONX(500)
33 READ1,Z
  1 FORMAT(A6)
  READ100,N,M
100 FORMAT(2I3)
  READ200,TM,TF,TC
200 FORMAT(3F5.3)
  EXPLOITATION MALES
  S=0.
  SC=0.
  DO30I=1,N
  READ300,X(I)
300 FORMAT(F6.3)
  S=S+X(I)
  SC=SC+(X(I)*X(I))
30 CONTINUE
  U=N
  XMOYM=S/U
  A=SC-S*S/U
  A=ABS(A)
  SIGCM=A/(U-1.)
  SIGM=SQRT(SIGCM)
  XICM=TM*SIGM/SQRT(U)
  EXPLOITATION FEMELLES
  SF=0.
  SFC=0.
  DO40J=1,M
  READ400,X(J)
400 FORMAT(F6.3)
  SF=SF+X(J)
  SFC=SFC+(X(J)*X(J))
40 CONTINUE
  V=M
  XMOYF=SF/V
  B=SFC-SF*SF/V
  B=ABS(B)
  SIGCF=B/(V-1.)
  SIGF=SQRT(SIGCF)
  XICF=TF*SIGF/SQRT(V)
  SORTIE DES RESULTATS
  PRINT6000,Z
000 FORMAT(5X,A6)
  PRINT1000,XMOYM,SIGM,XICM
000 FORMAT(5X,6HMOYMA=,F8.3,5X,6HSIGMA=,F8.3,5X,5HICMA=,F8.3//)
  PRINT2000,XMOYF,SIGF,XICF
000 FORMAT(5X,6HMOYFM=,F8.3,5X,6HSIGFM=,F8.3,5X,5HICFM=,F8.3//)
  COMPARAISON DES DEUX MOYENNES
  SIGC=(A+B)/(U+V-2.)
  TT1=XMOYM-XMOYF
  TT2=SQRT((SIGC/U)+(SIGC/V))
  TT=TT1/TT2
  T=ABS(TT)
  PRINT3000,T
000 FORMAT(5X,F7.3)
  IF(T-TC)10,20,20
  10 PRINT4000
000 FORMAT(28HDIFFERENCE NON SIGNIFICATIVE//)
  GO TO 33
  20 PRINT5000
000 FORMAT(35HDIFFERENCE SIGNIFICATIVE VOIR TABLE//)
  GO TO 33
END
```


ABREVIATIONS UTILISEES
 POUR L'ECRITURE DU PROGRAMME D'EXPLOITATION

Z	: Nom symbolique du dosage envisagé	
N	: Nombre de dosages chez les mâles	
M	: Nombre de dosages chez les femelles	
TM	: t pour les mâles	} Test de Student
TF	: t pour les femelles	
TC	: t pour la comparaison des moyennes	
S	: Sommes des valeurs mâles	
SC	: Sommes des carrés des valeurs mâles	
XMOYM	: Moyenne mâle	
SIGCM	: σ^2 mâles	
SIGM	: σ mâles	
XICM	: Intervalle de confiance mâle	
SF	: Somme des valeurs femelles	
SFC	: Somme des carrés des valeurs femelles	
XMOYF	: Moyennes femelles	
SIGCF	: σ^2 femelles	
SIGF	: σ femelles	
XICF	: Intervalle de confiance femelles	
T	: t (Test de Student)	

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ALTLAND P.D., THOMSON E.C.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1958, 99, 4.569.
Some factors affecting blood formation in turtles.

- 2 - ARNOLD A., POTTS G.O., BEYLER A.L.
Acta Endocrinology, 1963, 44, 490 - 498.
Relative oral anabolic to androgenic activity ratios of androisoxazole ethylesterenol methyl androsthenolisoxazole and testosterone.

- 3 - ASHER D.W., HORACE L.H.
Amer. J. Med. Technol., 1939, 5, 216 - 234.
Studies in experimental deshydration.

- 4 - ASKONAS B.A., HUMPHREY J.H.
Biochem. J. , 1968, 68, 252.

- 5 - AUSTIN J., SUNDERMAN F.W., CAMACK J.G.
J. Biol. Chem., 1927, 72, 677.

- 6 - BAILEY R.E.
J. Exp. Zool., 1957, 136, 455 - 469.
The effect of oestradiol on serum calcium, Phosphorus and protein of goldfish.

- 7 - BARCROFT J.
Physiol. Rev., 1924, 4, 329 - 351.
The significance of haemoglobin.

- 8 - BARIL E.F., PALMER J.L., BARTEL A.H.
Science 1961, 133, 278 - 279.
Electrophoretic analysis of young alligator serum.

- 9 - BASTIDE P., RIGAL M.T., DASTUGUE G.
C.R. Soc. Biol., 1966, 160, 1594.
- 10 - BASTIDE P., LAUMIN A.M., DASTUGUE G.
J. Physiol., 1967, 59, 208.
- 11 - BENEDICT S.R.
J. Biol. Chem., 1922, 51, 187.
- 12 - BENEDICT S.R.
J. Biol. Chem., 1928, 76, 457.
- 13 - BENHAMOU E., PUGLIESE J., CHICHE J.C., AMOUCH P.
Presse Med., 1954, 62, 651.
- 14 - BERGMAN R.A.M.
Folia. Haematol., 1957, 75, 92 - 111.
The erythrocytes of snakes.
- 15 - BESSEY O.A., LOWRY O.A., BROCK M.J.
J. Biol. Chem., 1946, 321, 164.
- 16 - BINYON E.J., TWIGG B.I.
Nature, 1965, 207, 779.
- 17 - BLANC A.
Thèse Doctorat Pharmacie, Clermont-Ferrand, 1945.
Sur le rapport comparé du cholestérol sanguin au cholestérol vésiculaire chez diverses espèces animales.
- 18 - BLOCK R.J., DURRUM E.M., ZWEIG G.
Academic press New York, 1955.
Paper Chromatography and Paper Electrophoresis.
- 19 - BOY, BONNAFE, MAZET
A. B. C., 1960, n° 10 - 12.

- 20 - BROWN H.
J. Biol. Chem., 1945, 158, 601.
- 21 - BUEKER E.D.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1961, 106, 373 - 377.
Paper electrophoretic patterns of human serum proteins compared with those of lower forms.
- 22 - CARMICHAEL E.B., PETCHER P.W.
J. Biol. Chem., 1945, 61, 693 - 696.
Constituents of the blood of the hibernating and normal rattlesnake, Crotalus horridus.
- 23 - CHABROL - CHARONNAT
Presse Med., 1937, 45, 1713.
- 24 - CLARK N.B.
Comp. Biochem. Physiol., 1967, 20, 823 - 834.
Influence des oestrogènes sur les concentrations en calcium, phosphate et protéines du sérum de tortue d'eau douce.
- 25 - COHEN E.
Science, 1954, 119, 98 - 99.
A comparison of the total protein and albumin content of the blood sera of some reptiles.
- 26 - COHEN E.
Biol. Bull., 1955, 109, 394 - 403.
Immunological studies of the serum protein of some reptiles.
- 27 - COHEN E., STICKLER G.
Science, 1958, 127, 1392 - 1393.
Absence of albumine - like serum proteins in turtles.
- 28 - COULSON R.A., HERNANDEZ T.
Endocrinology, 1953, 53, 311 - 320.
Glucose studies in crocodila.

- 29 - COULSON R.A., HERNANDEZ T., BRAZDA F.G.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 73, 203 - 206.
Biochemical studies on the alligator.
- 30 - CREMER H.D., TISELIUS A.
Biochem. Zeitschr., 1950, 320, 273 - 283.
Electrophorese von Eiweiss in Filtrierpapier,
- 31 - CROSBY W.H., MUNN J.I., FURTH F.W.
U.S. Armed Forces Med. J., 1954, 5, 693.
Standardizing a method for clinical hemoglobinometry.
- 32 - CUTTING W.C., CUTTER R.D.
Amer. J. Physiol., 1935, 113, 150 - 158.
Total plasma proteins in normal and fasting rats.
- 33 - DASTUGUE G., BASTIDE P., MARTIN P.
C.R. Soc. Biol., 1965, 159, 2367
Sur la répartition de la P.H.I. dans quelques organes et humeurs
de Vipera aspis (venin exclu).
- 34 - DERRICKSON M.B., AMBERSON W.R.
Biol. Bull., 1934, 67, 329.
Determination of blood volume in the lower vertebrates by the direct
method.
- 35 - DESSAUER H.C.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, 82, 351 - 353.
Hibernation of the lizard Anolis carolinensis.
- 36 - DESSAUER H.C., FOX W.
Fed. Proc., 1956, 15, 242.
Comparative study of plasma proteins of amphibians and reptiles.
- 37 - DESSAUER H.C., FOX W.
Science, 1956, 124, 225 - 226.
Characteristic electrophoretic patterns of plasma proteins of
orders of amphibia and reptilia.

- 38 - DESSAUER H.C., FOX W.
 Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1958, 98, 101.
 Geographic variations in plasma proteins patterns of snakes.
- 39 - DESSAUER H.C., FOX W.
 Amer. J. Physiol., 1959, 197, 360.
- 40 - DESSAUER H.C., FOX W., GILBERT N.L.
 Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1956, 92, 299.
 Plasma calcium, magnesium and proteins of viviparous colubrid snakes during oestrous cycle.
- 41 - DESSAUER H.C., FOX W., RAMIREZ J.R.
 Arch. Biochem. and Biophys., 1957, 71, 11.
 Preliminary attempt to correlate paper electrophoretic migration of hemoglobin with phylogeny in amphibia and reptilia.
- 42 - DESSAUER H.C., FOX W., SUTTON D.E.
 Fed. Am. Soc. Biol., 1961, Washington D.C.
 In Blood and Other Body Fluids, 40 - 42.
 Edit. by Dittmer D.S.
- 43 - DEUTCH H.F., GOODLOE M.B.
 J. Biol. Chem., 1945, 161, 1 - 20.
 An electrophoretic survey of various animal plasmas.
- 44 - DEUTCH H.F., Mc SHAN W.H.
 J. Biol. Chem., 1949, 180, 219.
 Electrophoretic studies of the blood serum proteins of some lower animals.
- 45 - DIETZ T.H., BRODIE E.D. Jr
 Comp. Biochem. Physiol., 1969, 30, 673 - 678
 Blood ion concentrations as a function of developmental stage in the gopher snake Pituophis melanoleucus catenifer.

- 46 - DILL D.B., EDWARDS H.T.
J. Cell. Comp. Physiol., 1953, 6, 243 - 254.
Properties of reptilian blood : the alligator.
- 47 - DODEL P., FEBVRE P.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1932, 14, 272.
(Analyse physico-chimique du plasma de Vipère). Eléments minéraux du sérum sanguin et survie d'organes isolés de Vipera aspis.
- 48 - DORFMAN R.I., DORFMAN A.S.
Acta Endocrinology, 1963, 42, 245 - 253.
The essay of subcutaneously injected androgens in castrated rats.
- 49 - DORFMAN R.I., SHIPLEY R.A.
"Androgens, biochemistry, physiology and clinical significance".
Wiley, New-York, 1956.
- 50 - DRILL V.A., SAUNDERS F.J.
In "Hormones and the Aging Process" (E.T. Engle and G. Pincus, Ed.)
99 - 112, Academic Press, New-York.
Androgenic and anabolic action of the testosterone derivatives.
- 51 - EISENBERG E., GORDAN G.S., ELLIOT H.W.
Endocrinology, 1949, 45, 113 - 119.
Testosterone and tissue respiration of the castrated male rats with a possible test of myotrophic activity.
- 52 - EKRENSING R.H.E.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1964, 117, 370.
- 53 - FALES F.W.
J. Biol. Chem., 1951, 193, 113.
- 54 - FERDMANN D., FEINSCHMIDT O.
Ergebn. Biol., 1932, 8, 1 - 74.
Der Winterschlaf.

- 55 - FINE J., GROULADE J., EYQUEM A.
Ann. Inst. Pasteur, 1954, 86, 378.
Etude par microélectrophorèse sur papier du sérum de Vipera aspis
et Vipera ursini.
- 56 - FISKE C.H., SUBBAROW Y.
J. Biol. Chem., 1925, 66, 375 - 400
The colorimetric determination of phosphorus.
- 57 - FOLIN O.
J. Biol. Chem., 1928, 77, 421.
- 58 - FOLIN O.
J. Biol. Chem., 1934, 106, 311.
The preparation of sodium tungstate free from molybdate, together
with a simplified process for the preparation of a correct acid uric
reagent.
- 59 - FOLIN O, WU H.
J. Biol. Chem., 1919, 38, 81.
- 60 - FRY H.K.
Quart. J. Exp. Physiol., 1914, 7, 185 - 193.
The blood volume of cold-blooded animals.
- 61 - GAUMER A.E.H., GOODNIGHT C.J.
Am. Midl. Nat., 1957, 58, 332 - 340.
Some aspects of the hematology of turtles as related to their activity.
- 62 - GENTZKOW G.J., MASON J.M.
J. Biol. Chem., 1942, 143, 531 - 550
An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by
direct nesslerization.
- 63 - GILLES - BAILLIEN M.
Arch. Int. Physiol. Biochem., 1966, 74, 328.
L'hibernation de la tortue grecque

- 64 - GILLES - BAILLIEN M.
Arch. Int. Physiol. Biochem., 1969, 77, 427 - 440.
Seasonal variations in blood and urine constituents of the tortoise
"Testudo hermanni hermanni" Gmelin.
- 65 - GIRI K.V.
J. Lab. Clin. Med., 1956, 48, 755 - 778
Agar electrophoresis of serum proteins in cellophane and polyester
films.
- 66 - GLEASON T.L., FRIEDBERG F.
Physiol. Zool., 1953, 26, 95 - 100
Filter paper electrophoresis of serum proteins from small animals.
- 67 - GORNALL A.G., BARDAWILL C.J., DAVID M.M.
J. Biol. Chem., 1949, 177, 751.
Determination of serum proteins by means of biuret reaction.
- 68 - GRABAR P., WILLIAMS C.A.
Bioch. Biophys. Acta, 1955, 17, 67 - 74.
- 69 - HACKETT E., HANN C.
J. Comp. Path., 1967, 77, 175 - 180.
Slow clotting of reptiles blood.
- 70 - HAGGAG G., RAHEEM A., KHALIL F.
Comp. Biochem. Physiol., 1965, 16, 457 - 465.
Hibernation in reptiles : changes in blood electrolytes.
- 71 - HAGGAG G., RAHEEM A., KHALIL F.
Comp. Biochem. Physiol., 1966, 17, 335 - 339.
Hibernation in reptiles : changes in ...
- 72 - HAWK, OSER, SUMMERSON.
Practical physiological chemistry.
13e Ed., 564.

- 73 - HENDERSON, WEINBERG.
J. Clin. Endocrinol., 1951, 11, 641 - 652.
Methylandrostenediol.
- 74 - HERNANDEZ T., COULSON R.A.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 76, 175 - 177.
Biochemical studies on the iguana.
- 75 - HERNANDEZ T., COULSON R.A.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, 79, 145.
- 76 - HIMWICH H.E.
Williams and Wilkins. Baltimore 1951.
Brain metabolism and cerebral disorders.
- 77 - HOFFMAN W.S.
J. Biol. Chem., 1937, 120, 51.
- 78 - HOPPING L.
Amer. J. Physiol. , 1923, 66, 145 - 163.
Seasonal changes in the gases and nitrogen distribution in blood
and urine of alligator.
- 79 - HOWE P.E.
J. Biol. Chem., 1921, 49, 109.
- 80 - HUGGINS S.E.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1961, 108, 231 - 234.
Blood volumes paramaters of a poikilothermal animal in hypothermia
and hyperthermia.
- 81 - HUTTON K.E.
J. Cell. Comp. Physiol., 1958, 52, 319 - 328.
The blood chemistry of terrestrial and aquatic snakes.
- 82 - HUTTON K.E.
Copeia, 1960, 4, 360 - 362.
Seasonal physiological changes in the red-eared turtle Pseudemys
scripta elegans.

- 83 - HUTTON K.E.
Amer. J. Physiol., 1961, 200, 1004 - 1006
Blood volume corpuscular constants and shell weight in turtles.
- 84 - HUTTON K.E., GOODNIGHT C.J.
Physiol. Zool., 1957, 30, 198 - 207.
Variations in the blood chemistry of turtles under active and hibernating conditions.
- 85 - IZARD Y., DETRAIT J., BOQUET P.
Ann. Inst. Pasteur, 1961, 100, 538 - 545.
Variations saisonnières de la composition du sang de Vipera aspis.
- 86 - JACKSON C.G. Jr, LEGENDRE R.C.
Comp. Biochem. Physiol., 1967, 20, 311.
Blood serum cholesterol levels in turtles.
- 87 - JOY Mme, DASTUGUE G.
C.R. Séances Soc. Phys. Biol. France, 1941, 45, 3.
Les éléments figurés du sang de vipère.
- 88 - JOY Mme, DASTUGUE G.
C.R. Soc. Phys. Biol., 1942, 57, 77.
Nouvelles recherches sur la composition du sang de Vipera aspis.
I : les éléments figurés.
- 89 - JOY Mme, DASTUGUE G.
C.R. Soc. Phys. Biol., 1943, 67, 61.
Nouvelles recherches sur la composition du sang de Vipera aspis.
II : les constituants chimiques.
- 90 - KAPLAN H.M., RUEFF W.
Proc. Anim. Care. Panel, 1960, 10, 63 - 68.
Seasonal blood changes in turtles.
- 91 - KEMP A., KITIS A.J.M.
Biochem. J., 1954, 56, 645 - 648.
A colorimetric micromethod for the determination of glycogen in tissue.

- 92 - KERR S.E., DAOUD L.J.
J. Biol. Chem., 1935, 109, 301 - 314.
A study of the organic acid soluble phosphorus of the erythrocytes of various vertebrates.
- 93 - KESTON A.S.
Abstracts of Papers. 129e Meeting A.C.S.
1956, 31.
- 94 - KHALIL F., ABDEL - MESSEIH G.
Comp. Biochem. Physiol., 1963, 9, 75 - 79.
Constituants des tissus des reptiles en relation avec leur mode de vie : contenu en azote et protéines du sérum.
- 95 - KHALIL F., YANNI M.
Z. Vergl. Physiol., 1959, 42, 192 - 198.
Studies on carbohydrates in reptiles.
- 96 - KINCL F.A.
In "Methods and Hormone Research" (R.I. Dorfman Ed.), 4, 21 - 76.
Academic Press. New-York.
Anabolic steroids.
- 97 - KINCL F.A., DORFMAN R.I.
Stéroïds, 1964, 3, 109 - 122.
Anabolic androgenic potency of various steroids.
- 98 - KOCHAKIAN C.D.
Rec. Prog. Hormone Res., 1947, 1, 177 - 216.
The role of hydrolytic enzymes in some of the metabolic activities of steroid hormones.
- 99 - KOCHAKIAN, TILLOTSON C.
In "Hormones and the Aging Process" (E.T. Engle and G. Pincus Ed.),
63 - 78, Academic Press. New-York, 1956.
Hormonal regulations of muscle development.

- 100 - KUNKEL H.G., TISELIUS A.
J. Gen. Physiol., 1951, 35, 89 - 118.
Electrophoresis of proteins on filter paper.
- 101 - LAFITI M., SHAMLOO K.D., AMIN A.
Canad. J. Biochem. , 1965, 43, 459 - 461.
Exemples caractéristiques d'électrophorèse de protéines du sérum de plusieurs espèces de serpents d'Iran.
- 102 - LASKOWSKI M.
Biochem. Z., 1936, 284, 318 - 321.
Über das vorkommen des serumvitellins im blute der Wirbeltiere.
- 103 - LUCK J.M., KEELER L.
J. Biol. Chem., 1929, 82, 703 - 707.
The blood chemistry of two species of rattlesnakes, Crotalus atrox and Crotalus oregonus.
- 104 - MARSH W.H., FINGERHUT B., MILLER H.
Clinical Chemistry, 1965, 2, 624.
- 105 - MARTIN P.
Thèse Doctorat Pharmacie, Clermont-Ferrand, 1965.
Contribution critique et expérimentale à la répartition de la P.H.I.
- 106 - MASAT R.J., DESSAUER H.C.
Comp. Biochem. Physiol., 1968, 25, 119 - 128.
Plasma albumins of reptiles.
- 107 - MASAT R.J., MUSACCHIA X.J.
Comp. Biochem. Physiol., 1965, 16, 215 - 225.
Serum protein concentration changes in the turtle Chrysemys picta.
- 108 - MENON K.R.
J. Univ. Bombay, 1952, 20, 47 - 51.
A comparative study of blood volume in some vertebrates.

- 109 - MILLER M.R.
Comparative physiology of carbohydrate metabolism in heterothermic animals
1961, 125.
Edited by A.W. Martin. Univ. of Washington Press, Seattle, Washington.
- 110 - MILLER L.L., BALE W.F.
J. Exp. Med., 1954, 99, 125.
- 111 - MILLER L.L., BLY C.G., BALE W.F.
J. Exp. Med., 1954, 99, 133.
- 112 - MILLER M.R., WURSTER D.H.
Endocrinol., 1956, 58, 114 - 120.
Studies on the blood glucose.
- 113 - MILLER M.R., WURSTER D.H.
Endocrinol., 1958, 63, 191 - 200.
Further studies on the blood glucose.
- 114 - MORGAND - LAUMIN A.M.
Thèse Doctorat Pharmacie, Clermont-Ferrand, 1969.
Contribution à l'étude critique et expérimentale de l'équipement enzymatique
des organes et humeurs de Vipera aspis, à l'exclusion du venin.
- 115 - MYERS V.C., WARDELL E.L.
J. Biol. Chem., 1918, 36, 147.
- 116 - NATHAN D.G., FRANK G.H.
Blood, 1965, 26, 411 - 420.
Effects of large doses of androgens on rodent erythropoiesis and body
composition.
- 117 - NICOL T., SNELL R.S., BILBEY D.L.J.
Brit. Med. J., 1956, 2, 800 - 801.
Effect of cortisone on the defense mechanisms of the body.

- 118 - NICOL T., BILBEY D.L.J., CHARLES L.M., CORDINGLY J.L., VERNON, ROBERTS B.J.
J. Endocrinol., 1964, 30, 277.
- 119 - NIMNI M.E., GEIGER E.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1957, 94, 606 - 610
Non suitability of levator any method as an index of anabolic effect of steroid.
- 120 - PENGALLY E.T., FISHER R.C.
Nature Lond., 1957, 180, 1371 - 1372.
Onset and cessation of hibernation under constant temperature and light in the golden mantled ground squirrel (Citellus lateralis)
- 121 - PLAGNOL H., VIALARD - GOUDOU A.
Ann. Inst. Pasteur, 1956, 90, 276.
Electrophorèse sur papier du sérum de différents serpents.
- 122 - PLATNER W.S.
Univ. Microfilm (Ann. Arbor, Mich.), 1949, pub. N° 1231.
Body magnesium and temperature.
- 123 - POPPER H., MANDEL F., MAYER H.
Biochem. Zeitschr, 1937, 291, 354.
- 124 - PORA E.A., STOICOVICI F., ROSCA D.I.
Acad. rep. Populare Romine, filialiale Cluj. studii cercetari biol., 1960, 11, 363 - 367.
Modification of potassium, calcium and phosphorus, in the blood of bats in hibernation and forced awakening.
- 125 - POTTS G.D., ARNOLD A., BEYLER A.L.
Endocrinol., 1960, 67, 849 - 854.
Comparative myotrophic and nitrogen retention effect of several steroids.

- 126 - PRADO J.L.
Rev. Canad. Biol., 1946, 5, 564 - 570.
Glucose tolerance test in ophidia and the effect of feeding on their glycemia.
- 127 - RAO C.A.P., DAVID G.F.X.
Gen. and Comp. Endocrinol., 1967, 9, 227 - 233.
The effect of certain steroids on the serum protein concentration of the lizard Uromastix hardwickii gray.
- 128 - RAPATZ G.L., MUSACCHIA X.J.
Ann. J. Physiol., 1957, 188, 456 - 460.
Metabolism of Chrysemys picta during fasting and during cold torpor.
- 129 - RAPOPORT S., GUEST G.M.
J. Biol. Chem., 1941, 138, 269 - 282.
Distribution of acid soluble phosphorus in the blood cells of various vertebrates.
- 130 - RENAULT H., ETIENNE G.
Symposium, 1964, Technicon France.
A. B. C., 1963, 21, 10, 12, 851 - 859.
- 131 - RHANEY M.C.
Ph. D. Dissertation ; Univ. of Michigan, 1948.
Some aspects of the carbohydrate metabolism of the kingsnake Lampropeltus getulus floridana.
- 132 - RIDER J., BARTEL A.H.
Comp. Biochem. Physiol., 1967, 20, 1005 - 1008.
Analyse électrophorétique du sérum de jeune caïman et de crocodile.
- 133 - RIEDESEL M.L., FOLK G.I. Jr.
Nature Lond., 1956, 177, 668.
Serum magnesium changes in hibernation.

134 - ROTH M.

Clinica Chimica Acta, 1967, 17, 487 - 492.

135 - SCHALES D., SCHALES S.S.

J. Biol. Chem., 1941, 140, 879 - 884.

A simple and accurate method for the determination of chlorides in biological fluids.

136 - SCHMIT.

Thèse Pharmacie, Lyon, 1964.

137 - SHORT J.J., GELLIS A.D.

J. Biol. Chem., 1927, 73, 219.

138 - SIMKISS K.

Biol. Rev., 1961, 36, 321.

139 - SMITH H.W.

J. Biol. Chem., 1929, 82, 651 - 661.

The organic composition of the body fluids of the chelonia.

140 - SNELL R., NICOL T.

Nature, 1956, 178, 1405 - 1406.

Effects of testosterone and androstane 3 β 17 α diol on the activity of reticulo-endothelial system.

141 - SOBEL A.E., HANOCK A.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 77, 737 - 740.

A rapid method for determination of ultra-micro quantities of calcium and magnesium.

142 - SOBEL A.E., MAYER A.M., GOTTFRIED S.P.

J. Biol. Chem., 1944, 156, 355 - 363.

A inconvenient titrimetric ultramicro method for the estimation of urea and Kjeldahl nitrogen.

- 143 - STENROOS O.O., BOWMAN W.M.
Comp. Biochem. Physiol., 1968, 25, 219 - 222
Turtle blood : concentration of various constituents.
- 144 - STUCKI J.C., DUNCAN G.W., LYSTER S.C.
Excerpta Med. Inter. Cong. Ser., 1962, 51, 65 - 66.
Anabolic and androgenic activities of 7 α 17 α dimethyl testosterone,
a new anabolic steroid.
- 145 - SUOMALAINEN P.
Nature Lond., 1938, 141, 471.
Magnesium and calcium content of hedgehog serum during hibernation.
- 146 - SUOMALAINEN P., SARJAS S.
Nature Lond., 1951, 168, 211.
Heart beat of hibernating hedgehog.
- 147 - SUZUKI H.K.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 1963, 109, 351.
- 148 - SUZUKI H.K., PROSSER R.L.
Proc. Soc. Biol. Med., 1968, 127, 4 - 7.
Effets du valérate d'oestradiol sur le sérum et les os du lézard
Scleoporus cyanogenys
- 149 - SWAHN
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1949, 28, 1469.
- 150 - TELLER J.D.
Abstracts of Papers.
130e Meeting A.C.S., 1956, 69.
- 151 - THORSON T.B.
Copeia, 1968, 592 - 601.
Body fluid partitioning in reptilia.

- 152 - URIEL J., FINE J.M., COURCON J., LE BOURDELLE F.
 Bull. Soc. Chim. Biol., 1957, 39, 1415.
 Contribution à l'étude des protéines et lipoprotéines des sérums d'animaux.
- 153 - URIST M.R., SCHJEIDE A.O.
 J. Gen. Physiol., 1961, 44, 743.
 The partition of calcium and protein in the blood of oviparous vertebrates during oestrus.
- 154 - VAN ALLEN C.M.
 J. Am. Med. Ass., 1925, 84, 202 - 203.
 An hematocrit method.
- 155 - VAN SLYKE D.D.
 J. Biol. Chem., 1922, 52, 495 - 499.
 Determination of the bicarbonate concentration of blood and plasma.
- 156 - VAN SLYKE D.D., CULLEN G.E.
 J. Biol. Chem., 1916, 24, 117.
- 157 - VAN SLYKE D.D., CULLEN G.E.
 J. Biol. Chem., 1914, 19, 211.
- 158 - VAUGHAN J.H., BAYLES T.B., FAVOURS G.B.
 Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 76, 274 - 277.
 Effect of 17 - hydroxy 11 - dehydro-corticosterone and adrenocorticotrophic hormone upon plasma gamma globulin, fibrinogen and erythrocytes sedimentation rate.
- 159 - WELCKER H.
 Zeitschr. Ration. Med., 1958, 4, 145 - 167.
 Bestimmungen der menge des korperblutes und der blutfarbkraft sorvie bestimmungen Von Zahl, Maass, Oberflache und volum des einselnen blutkorperchens bei thieren und bei Menschen.

- 160 - WILBER C.G.
Ohio J. Sci., 1962, 3; 132 - 138.
Some circulatory problems in reptiles and amphibians
- 161 - WILSON B., HANSARD S.L., COLE B.T.
Proc. La. Acad. Sci., 1960, 23, 45 - 52.
Total blood volume of the turtle and the frog.
- 162 - WINTROBE M.M.
Fol. Haemat. Lpz., 1934, 51, 32 - 49.
Variation in the size and hemoglobin content of erythrocyte in the blood of various vertebrates.
- 163 - YOUNG J.B.
Plasma proteins, 1950, vol. 2 ; Charles Thomas - Springfield. Illinois U.S.A.
Symposia on nutrition of the Robert Gould Research Foundation Inc.
- 164 - ZAIN-UL - ABEDIN M., KATORSKI B.
Canad. J. Physiol. Pharmacol., 1966, 44, 505.
- 165 - ZAIN-UL - ABEDIN M., KATORSKI B.
Canad. J. Physiol. Pharmac., 1967, 45, 115.
- 166 - ZAIN-UL - ABEDIN M., QAZI M.H.
Can. J. Biochem., 1965, 43, 831 - 833.
Blood sugar levels of some reptiles founds in Pakistan.
- 167 - ZALL D.M., FISCHER D., GARNER M.O.
Anal. Chem., 1956, 28, 1665.
- 168 - ZLATKIS A., ZAK B., BOYLE A.J.
J. Lab. Clin. Med., 1953, 41, 486 - 492.
A new method for the direct determination of serum cholesterol.

169 - ZWEIG G., GRENSHAW J.W.

Science, 1957, 126, 1065.

Differentiation of species by paper electrophoresis of serum protein
of Pseudemys turtles.

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION GENERALE	7
 <u>PREMIERE PARTIE : RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	
<u>CHAPITRE I</u> - Introduction à l'étude de différents travaux	10
<u>CHAPITRE II</u> - Hématocrite. Volume plasmatique et volume globulaire. Vitesse de sédimentation	14
<u>CHAPITRE III</u> - Globules rouges : Numération. Hémolyse. Composition ionique. Hémoglobine	23
<u>CHAPITRE IV</u> - Plaquette sanguines. Leucocytes	28
<u>CHAPITRE V</u> - Etude de la coagulation du sang	29
<u>CHAPITRE VI</u> - Protéines plasmatiques : 1°/ Etude électrophorétique	31
2°/ Etude de l'albumine	37
3°/ Influence de facteurs exogènes	40
4°/ Influence de certains stéroïdes	43
5°/ Protéines - Enzymes	46
<u>CHAPITRE VII</u> - Lipides plasmatiques. Cholestérol	48
<u>CHAPITRE VIII</u> - Constituants azotés non protéiques	51
<u>CHAPITRE IX</u> - Glycémie	55
<u>CHAPITRE X</u> - Gaz du sang. pH. Réserve alcaline	60
<u>CHAPITRE XI</u> - Constituants minéraux du plasma	62
<u>CHAPITRE XII</u> - Aperçu biochimique du phénomène de l'hibernation	67

<u>DEUXIEME PARTIE</u> : RECHERCHES EXPERIMENTALES	
<u>CHAPITRE I</u> : Conservation et utilisation des animaux. Expression des résultats	81
<u>CHAPITRE II</u> : Hématocrite et vitesse de sédimentation globulaire. Hémolyse. Composition minérale globulaire	86
<u>CHAPITRE III</u> : Hémoglobine. Dosage et étude électrophoré- tique	93
<u>CHAPITRE IV</u> : Protéines plasmatiques. Teneur globale et étude électrophorétique	98
<u>CHAPITRE V</u> : Glucoprotéines plasmatiques	105
<u>CHAPITRE VI</u> : Lipoprotéines et lipides plasmatiques	110
<u>CHAPITRE VII</u> : Constituants azotés non protéiques	115
<u>CHAPITRE VIII</u> : pH. Réserve alcaline	121
<u>CHAPITRE IX</u> : Etude de la glycémie	124
<u>CHAPITRE X</u> : Constituants minéraux du plasma	128
 RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES	 131
 Organigramme des calculs	 136
Programme d'exploitation des résultats	137
Abréviations utilisées pour l'écriture du programme d'ex- ploitation des résultats	138

BIBLIOGRAPHIE

